PLANTA

ARCHIV FÜR WISSENSCHAFTLICHE BOTANIK

UNTER MITWIRKUNG VON

E. BÜNNING-TÜBINGEN, **A. ERNST**-ZÜRICH, **H. v. GUTTENBERG**-ROSTOCK,
R. HARDER-GÖTTINGEN, **W. SCHUMACHER**-BONN, **G. TISCHLER**-KIEL

HERAUSGEGEBEN VON

WILHELM RUHLAND UND **OTTO RENNER**

43. BAND, 4. HEFT

MIT 51 TEXTABBILDUNGEN

(ABGESCHLOSSEN AM 19. MÄRZ 1954)

BERLIN · GÖTTINGEN · HEIDELBERG
SPRINGER-VERLAG
1954

Planta (Berl.)

Preis DM 21.80

Planta. Archiv für wissenschaftliche Botanik.

Begründet 1925. Herausgegeben von *W. Ruhland, H. Winkler*. Berlin, Springer. Bis Band 21 als „Zeitschrift für wissenschaftliche Biologie, Abteilung E: Planta".

Die Zeitschrift **„Planta"**, Archiv für wissenschaftliche Botanik steht in deutscher Sprache oder einer der Kongreßsprachen, sofern sie die Muttersprache des Autors ist, abgefaßten Originalarbeiten aus dem Gesamtgebiet der Botanik, abgesehen von solchen rein systematischen oder floristischen Inhalts, offen.

Arbeiten, welche einen Vermerk des Verfassers „Kurze Mitteilung" tragen, werden sobald als möglich außerhalb der Reihenfolge des Eingangs abgedruckt. Ihr Umfang darf 4 Druckseiten nicht überschreiten; die Beigabe von Abbildungen ist nur in Ausnahmefällen angängig.

Die Zeitschrift erscheint zur Ermöglichung raschester Veröffentlichung zwanglos in einzeln berechneten Heften, die zu Bänden vereinigt werden.

Der Autor erhält einen Unkostenersatz von DM 20.— für den 16seitigen Druckbogen, jedoch im Höchstfalle DM 60.— für eine Arbeit. Für „Kurze Mitteilungen" wird ein Unkostenersatz nicht erstattet.

Es wird ausdrücklich darauf aufmerksam gemacht, daß mit der Annahme des Manuskriptes und seiner Veröffentlichung durch den Verlag das ausschließliche Verlagsrecht für alle Sprachen und Länder an den Verlag übergeht. Grundsätzlich dürfen nur Arbeiten eingereicht werden, die vorher weder im Inland noch im Ausland veröffentlicht worden sind, und die auch nachträglich nicht anderweitig zu veröffentlichen der Autor sich verpflichtet.

Es ist ferner ohne ausdrückliche Genehmigung des Verlages nicht gestattet, photographische Vervielfältigungen, Mikrofilme, Mikrophote u. ä., von den Zeitschriftenheften, von einzelnen Beiträgen oder von Teilen daraus herzustellen.

Die Mitarbeiter erhalten von ihrer Arbeit bis auf weiteres zusammen 75 Sonderdrucke unentgeltlich.

Aufnahmebedingungen siehe 3. Umschlagseite.

Alle Manuskripte und Anfragen sind zu richten an

Professor Dr. Wilhelm Ruhland, (14a) *Unterdeufstetten über Crailsheim*, oder an

Professor Dr. Otto Renner, (13b) *München 38, Botanische Staatsanstalten, Menzinger Straße 67*.

Springer-Verlag

Berlin W 35, Reichpietschufer 20, Fernsprecher 249251
und
Heidelberg, Neuenheimer Landstr. 24, Fernsprecher 2440

Vertriebsvertretung im Ausland:

Lange, Maxwell & Springer Ltd., 242 Marylebone Road, London N.W. 1

43. Band. **Inhaltsverzeichnis.** 4. Heft

Seite

Eberhardt, F., Über die Beziehungen zwischen Atmung und Anthocyansynthese. Mit 15 Textabbildungen 253

Fischer, A., Über die papierchromatographische und papierelektrophoretische Trennung von Indolderivaten. Mit 9 Textabbildungen 288

Harder, R., und R. Bünsow, Über die Wirkung der Tageslänge vor der Kurztaginduktion auf die Blütenbildung von Kalanchoë Bloßfeldiana. Mit 5 Textabbildungen 315

Rauh, W., und F. Rappert, Über das Vorkommen und die Histogenese von Scheitelgruben bei krautigen Dikotylen, mit besonderer Berücksichtigung der Ganz- und Halbrosettenpflanzen. Mit 22 Textabbildungen 325

Planta, Bd. 43, S. 253—287 (1954).

Aus dem Botanischen Institut der Universität Tübingen.

ÜBER DIE BEZIEHUNGEN ZWISCHEN ATMUNG UND ANTHOCYANSYNTHESE.

Von

F. EBERHARDT.

Mit 15 Textabbildungen.

(Eingegangen am 30. Oktober 1953.)

I. Einleitung.

Die Erscheinung, daß künstliche Zuckerzufuhr bei vielen Pflanzen die Anthocyanbildung hervorrufen oder verstärken kann, hat zu verschiedenartigen Ansichten über die Bedeutung von Zuckern für die phytochemische Synthese der Anthocyane geführt. OVERTON (1899) schloß aus seinen Versuchen auf einen Zusammenhang zwischen Anthocyanfärbung und Zuckerreichtum der Zellen. Die Auffassung, daß Zucker*anhäufung* in den Geweben eine Voraussetzung für die Farbstoffbildung sei, ist auch später mehrfach vertreten worden. In jüngster Zeit haben THIMANN und EDMONDSON (1949) diesen Gedanken erneut ausgesprochen. Sie entnehmen aus Versuchen mit *Spirodela oligorrhiza*, daß die Anthocyansynthese von angehäuften Zuckern ihren Ausgang nimmt. Die fördernde Wirkung von Glucose, Fructose und Saccharose auf die Pigmentbildung in nicht wachsenden *Spirodela*-Kulturen wird von THIMANN, EDMONDSON und RADNER (1951) dahingehend gedeutet, daß diese Zucker unabhängig voneinander in Anthocyan umgewandelt werden können. Aber diese Umwandlung soll nicht auf dem Wege des gewöhnlichen Kohlenhydratumsatzes vor sich gehen, weil verschiedene gefütterte Zwischenprodukte des glykolytischen Abbaues die Pigmentierung nicht begünstigten. Auch Phosphat war ohne fördernde Wirkung auf den Anthocyangehalt der Kulturen. ROBINSON (1937), der die Biogenese der Anthocyane vom chemischen Gesichtspunkt aus diskutiert hat, hält die Vorstellung für gerechtfertigt, daß die Farbstoffe aus einfachen Kohlenhydraten gebildet werden. Danach kommt dem Zuckermolekül die Bedeutung eines unmittelbaren Ausgangsproduktes für die Anthocyansynthese zu.

Demgegenüber vertreten FREY-WYSSLING und BLANK (1943) die Auffassung von einer indirekten Wirkung des Zuckers. Ihre quantitativen

Untersuchungen über einen Zusammenhang von Zuckermenge und Anthocyan in Rotkohlkeimlingen haben eine Beziehung zwischen beiden Größen nicht erkennen lassen. In Kressekeimlingen können neben Rohrzucker, Glucose und Fructose auch so ungewöhnliche Zucker wie Arabinose und Sorbose die Synthese von Anthocyan begünstigen. Auf Grund dieser Beobachtung neigen auch EDDY und MAPSON (1951) zu der Ansicht, daß die Zucker nicht unmittelbar als Bausteine in die Farbstoffsynthese eingehen, sondern daß sie erst über den intermediären Stoffwechsel in Form ihrer Abbauprodukte für die Anthocyanbildung zugänglich werden. In einer Zusammenfassung der Theorien über die Biogenese von Flavan-Derivaten treten GEISSMAN und HINREINER (1952) ebenfalls für eine indirekte Wirkung der Mono- und Disaccharide ein. Auch die Tatsache, daß Zuckerzufuhr die Bildung recht verschiedener sekundärer Pflanzenstoffe fördert, läßt eine Wirkung von Spaltprodukten der Zucker erwarten. So konnte durch Zuckerfütterung neben der Anthocyanbildung auch eine Vermehrung des Arbutingehaltes (DANNER 1940) und eine Synthese von Carotinoiden erreicht werden (LIPMAA 1924, zit. bei BLANK 1947).

Man kann also annehmen, daß Substanzen, die einem Gewebe oder einer Pflanze künstlich zugeführt werden, zunächst in allgemeine Stoffumsetzungen eintreten und nach ihrer Umformung in einfachere einheitliche Bausteine dann zu dem Material werden, von dem die Synthese komplizierterer Verbindungen ihren Ausgang nimmt. PAECH (1950) weist darauf hin, daß bei der Aufklärung der Zuckerwirkung die *umgesetzte* Zuckermenge berücksichtigt werden müßte. Hier könnte die Beobachtung der Atmung während der Anthocyanbildung Aufschluß darüber geben, ob der Zucker über einen allgemein gesteigerten Stoffwechsel in die Farbstoffsynthese eingeht. Mit der vorliegenden Untersuchung sind die Fragen aufgegriffen worden, 1. ob ein verstärkter Stoffumsatz Voraussetzung für die Anthocyangenese ist, und 2. welche stoffwechselphysiologischen Bedingungen für die Farbstoffbildung notwendig sind.

Zur Klärung der gestellten Fragen wurden die Untersuchungen sowohl an der künstlich durch Zucker induzierten Anthocyanbildung als auch an der Synthese aus arteigenen Baustoffen vorgenommen. Für die Durchführung der Versuche mußte pflanzliches Material verwendet werden, das in relativ kurzer Zeit möglichst viel Anthocyan produzieren kann. Die natürliche Farbstoffbildung wurde bei Rotkohlkeimlingen, die künstlich durch Zuckergaben angeregte Anthocyansynthese bei Blättern von *Saxifraga crassifolia* studiert. Aus dem Verhalten der Atmung während der Anthocyanproduktion und aus der Wirkung von Eingriffen in den Zwischenstoffwechsel konnten Hinweise auf den Ausgangspunkt der Farbstoffsynthese erwartet werden.

II. Material und Methode.

1. Aufzucht der Keimlinge von Brassica oleracea L. var. capitata L. f. rubra (L.).

Samen der Rotkohlsorte „Amerikanische Mammuth" wurden zu je 100 Stück auf Filterpapier in Petrischalen ausgelegt und je Schale mit 5 ml Aqua dest. angefeuchtet. Für einige Versuche wurden die Keimlinge zu je 1500 Stück in Saatkästen mit Flußsand aufgezogen. Die Keimlinge wuchsen in einem Raum auf, dessen Temperatur während der Dauer eines Versuches Schwankungen von höchstens $\pm$ 0,5° C aufwies. Die Versuchstemperatur betrug im allgemeinen 23—24° C. Abweichungen von diesem Wert sind bei den Ergebnissen besonders vermerkt. Keimlinge, die im Dauerlicht aufwuchsen, waren 1000—2000 Lux ausgesetzt, die von 4 Osram-Leuchtröhren HNT 120 mit je 25 Watt im Abstand von 0,4—0,6 m ausgestrahlt wurden. Innerhalb einer Versuchsreihe war der Abstand der Pflanzen von der Lichtquelle gleich. Etiolierte Keimlinge wuchsen in demselben Raum wie die belichteten auf. Die Petrischalen waren in diesem Falle in lichtundurchlässiges Papier eingewickelt, die Kästen mit Dunkelstürzen zugedeckt.

2. Blätter von Saxifraga crassifolia L.

Das Blattmaterial für die Untersuchung der zuckerinduzierten Anthocyanbildung stammte von Freilandpflanzen aus dem Alpinum des Botanischen Gartens in Tübingen. Alle *Saxifraga*-Stauden wachsen dort unter gleichen Lichtbedingungen. Im allgemeinen kamen nur rein grüne Blätter zur Verwendung. Aus den Blatthälften wurden mit einer Schablone flächengleiche Stücke von 1 cm² Größe ausgestanzt. Die verwendeten Stellen einer Blattspreite waren ungefähr gleich dick. Größere Blattnerven wurden beim Ausschneiden umgangen. Die Blattstücke wurden in Petrischalen auf 0,1 molarer Rohrzuckerlösung oder auf Aqua dest. unter den gleichen Bedingungen gehalten, wie sie für die Aufzucht der Keimlinge angegeben sind. Die Lösungen wurden in regelmäßigen Abständen erneuert. Pilzwachstum trat nicht auf. Die Blattstücke schwammen auf den Lösungen mit der Blattoberseite nach oben gewendet.

3. Bestimmung von Anthocyan und Leuko-Anthocyan.

Zur Anthocyanbestimmung diente die Absorptionsmessung mit dem Pulfrich-Photometer. Dazu wurden je 60 Keimlinge ohne die farblose Wurzel mit etwas Quarzsand in der Reibschale zerrieben und bei Zimmertemperatur mit Veibelscher Lösung (6,71 g KCl in 1 Liter n/100 HCl; p_H 2) extrahiert. Die Lösung wurde durch ein Kieselgurfilter (Schleicher und Schüll Nr. 287) filtriert, das Filter mit Veibelscher Lösung ausgewaschen, und das Filtrat mit der gleichen Flüssigkeit auf 25 ml aufgefüllt. Die Extinktion wurde mit dem Grünfilter S 53 (Filterschwerpunkt bei 5300 Å) in der 2 cm-Küvette gemessen. Als Bezugsgröße diente der Keimling. In den Tabellen und Abbildungen sind die Werte für 60 Keimlinge verzeichnet. Die Messungen geben nur relative Anthocyanmengen an, da auf die Reindarstellung des Anthocyans für eine Eichung verzichtet werden konnte. Die Extraktion des Farbstoffes aus den *Saxifraga*-Blättern erfolgte auf die gleiche Weise. In diesem Falle diente die Blattfläche als Bezugsgröße.

Zur Ausfärbung der Leuko-Anthocyane wurden 10 ml der Lösung nach der Bestimmung der Anthocyan-Extinktion mit einem Tropfen konzentrierter Schwefelsäure versetzt und 5 min im Wasserbad gekocht. Um die Verdampfung des Lösungsmittels zu verhindern, waren die Proben mit Gummistopfen verschlossen, die

von kurzen Capillarröhren durchbohrt waren. Aus der Differenz der Extinktionswerte (e) vor und nach der Ausfärbung des Leuko-Anthocyans zum roten Anthocyan konnte der Wert für Leuko-Anthocyane ermittelt werden.

Die Prüfung der Gültigkeit des LAMBERT-BEERschen Gesetzes mit Hilfe von Verdünnungsreihen ergab eine lineare Abhängigkeit der Extinktion von der Konzentration des Anthocyans. Die Extinktionswerte konnten als relatives Maß für den Farbstoffgehalt benützt werden.

4. Atmungsmessungen.

Die Atmungsmessungen wurden mit der Warburg-Apparatur (System Möhle) durchgeführt. Die Ablesegenauigkeit beträgt 0,5 mm und somit bei einer durchschnittlichen Gefäßkonstanten von 2 etwa 1 mm^3 O_2 bzw. CO_2. Bei Verwendung von 10 Keimlingen im Gefäß könnten theoretisch Werte bis zur Genauigkeit von 0,1 mm^3 gemessen werden, praktisch ist jedoch die individuelle Schwankung der Atmungsintensität bei den Keimlingen erheblich größer. Sie beträgt zwischen vergleichbaren Proben mit je 10 Keimlingen etwa 10%. Für flächengleiche Blattstücke ist die Genauigkeit größer. Die Messungen wurden im allgemeinen über 2 Std verfolgt. In den Tabellen und graphischen Darstellungen sind die in 1 Std verbrauchten bzw. entwickelten Gasmengen angegeben. Das Warburg-Gerät stand in einer Dunkelkammer mit einer durchschnittlichen Temperatur von 19 bis 20° C. Die Temperatur des Wasserbades war innerhalb der Grenzen von $\pm$ 0,01° C konstant und betrug bei den Rotkohlversuchen 25° C, bei den Versuchen mit *Saxifraga* 24° C. Für alle Messungen wurden Warburg-Gefäße mit Erlenmeyer-Form und 40 mm Bodendurchmesser verwendet. Jedes Gefäß enthielt im Außenraum 0,1 ml Wasser und im zentralen Einsatz entweder 0,2 ml KOH (11%) oder die gleiche Menge Wasser.

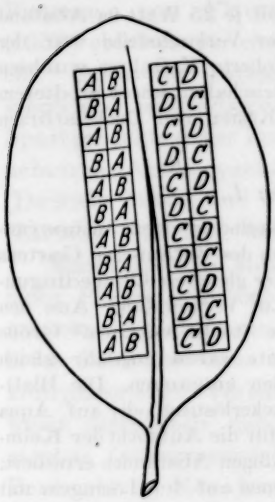


Abb. 1. Schema der Verteilung der Blattstücke aus einem *Saxifraga*-Blatt auf vergleichbare Proben.

Zur Atmungsmessung der Keimlinge dienten 2 Verfahren:

a) Von den auf Sand gezogenen Keimlingen kamen zu den angegebenen Zeiten je 10 Stück ohne die anthocyanfreie Wurzel in ein Warburg-Gefäß. Nach der Atmungsmessung wurden jeweils 60 Keimlinge aus gleichen Ansätzen extrahiert. Bei diesem Verfahren war es möglich, die Gefäße mit Keimlingen einheitlicher Größe zu beschicken.

b) Für die auf Filterpapier in Petri-Schalen gezogenen Keimlinge gilt folgende Anordnung: sobald das Keimen der Samen mit Sicherheit zu erkennen war, kamen je 10 Keimlinge nach Entfernung der Testa in ein Warburg-Gefäß, dessen Boden mit einem ringförmig zugeschnittenen Filterpapier bedeckt war. Alle Gefäße enthielten die gleiche Menge Wasser. Die Keimlinge wuchsen so mehrere Tage lang in den Warburg-Gefäßen, die in Zeiten zwischen den Messungen in einer feuchten Kammer gehalten wurden. Es konnte zwar nicht unter sterilen Bedingungen gearbeitet werden, jedoch zeigten sowohl mikroskopische Kontrollen als auch die gute Übereinstimmung mehrerer Versuche, daß keine Störungen der Messung durch Mikroorganismen auftraten. Für die Farbstoffbestimmungen wurden bei dieser Anordnung Keimlinge aus Parallelansätzen herangezogen. Der Vorteil

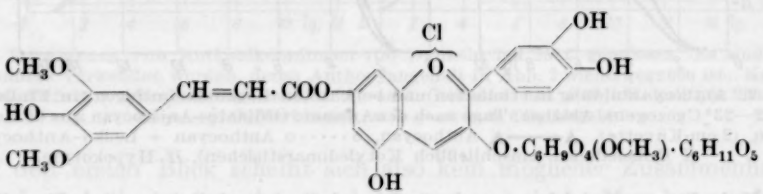
dieses Verfahrens besteht darin, daß der Verlauf der Atmung während der Entwicklung immer an den gleichen Keimlingen gemessen werden kann. Auf die einheitliche Größe der Keimlinge mußte bei dieser Versuchsanordnung verzichtet werden.

Da die Blattspreite von *Saxifraga crassifolia* in der Regel eine Länge von 20 cm und eine Breite von etwa 12 cm erreicht, war das aus einem Blatt gewonnene Material für einen Versuch ausreichend. Wenn in einzelnen Versuchsreihen mehr als 2 vergleichbare Proben aus demselben Blatt verwendet werden mußten, so wurde die Verteilung der einzelnen Blattstücke entsprechend dem Schema der Abb. 1 vorgenommen. Für die Atmungsmessung kamen je 6 bzw. 10 flächengleiche Blattstücke in ein Warburg-Gefäß, dessen Boden mit feuchtem Filterpapier bedeckt war. Für Blattscheiben von Tomaten wurde eine ähnliche Methode von KLINKER (1950) beschrieben.

III. Atmung und Anthocyanbildung bei Keimlingen von *Brassica oleracea* L. *var. capitata* L. *f. rubra* (L.)

1. Anthocyanbildung und Atmung im Verlauf der Keimlingsentwicklung.

Das Anthocyan des Rotkohls ist nach CHMIELEWSKA (zit. bei FREY-WYSSLING und BLANK 1943) ein Cyanidin, das zwei reduzierende Zuckermoleküle enthält, mit Sinapinsäure (4-Oxy-3,5-dimethoxy-zimtsäure) verestert ist und als Rubrobrassicin bezeichnet wird. Eine Zuckerkomponente konnte als Glucose identifiziert werden.



Der Farbstoff tritt in Hypokotylen und Kotyledonen auf. Er ist in den Kotyledonarstielchen am konzentriertesten und findet sich in den Vacuolen häufig zu tiefrot gefärbten Kügelchen zusammengeballt.

Der Anthocyangehalt nimmt in den ersten Tagen des Wachstums rasch zu (Abb. 2). Er erreicht nach ungefähr 8 Tagen ein Maximum. Die Farbstoffproduktion ist bei den belichteten Keimlingen erheblich höher als bei den etiolierten. Sie ist in beiden Fällen in den Kotyledonen größer als in den Hypokotylen. Das steht im Widerspruch zu den Angaben von FREY-WYSSLING und BLANK (1943), deren Messungen für die Hypokotyle höhere Werte als für die Kotyledonen ergaben[1]. In den belichteten Keimlingen wird außerdem eine Substanz gebildet, die sich ähnlich wie Anthocyan verhält, jedoch erst bei kurzem Kochen mit Säure rot wird. Entsprechend diesen Eigenschaften muß es sich

[1] Es ist möglich, daß dieser Gegensatz seine Ursache in der Verwendung verschiedener Rotkohlsorten hat. Für die vorliegenden Untersuchungen konnte das von FREY-WYSSLING und BLANK verwendete Material („Erfurter blutrote Riesen") nicht beschafft werden.

um einen Stoff der verbreiteten Gruppe der Leuko-Anthocyane handeln. In den etiolierten Pflanzen spielt diese Komponente kaum eine Rolle.

Die von FREY-WYSSLING und BLANK beschriebene Abnahme des Anthocyangehaltes im Hungerstoffwechsel (d. h. unter Lichtausschluß) trat bei der Sorte „Amerikanische Mammuth" nicht so deutlich in Erscheinung. Hingegen konnte bei den belichteten Keimlingen nach dem 10. Tag eine Abnahme des Anthocyangehaltes beobachtet werden. Die Farbstoffverminderung kann also nicht eine Folge des Hungerstoffwechsels sein. Die Erscheinung ist möglicherweise allgemein mit

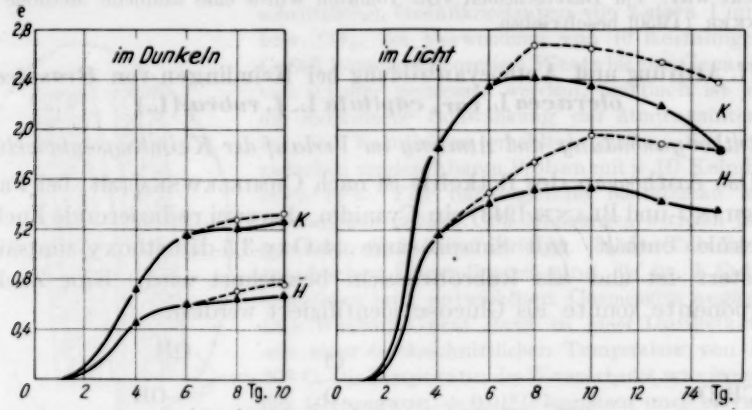


Abb. 2. Anthocyanbildung in etiolierten und belichteten Rotkohlkeimlingen (in Flußsand bei 22—23° C gezogen). Abszisse: Tage nach der Aussaat. Ordinate: Anthocyan aus 60 Keimlingen (2 cm-Küvette). ▲——▲ Anthocyan, o - - - - - o Anthocyan + Leuko-Anthocyan, *K* Kotyledonen (einschließlich Kotyledonarstielchen), *H* Hypokotyle.

der Keimlingsentwicklung verknüpft und findet vielleicht eine Parallele in der Anthocyanentfärbung in jugendroten Blättern (vgl. PAECH und EBERHARDT 1952).

Für jede Probe wurden Pflanzen einheitlicher Größe ausgewählt. Die Tabelle gibt die Größe der Keimlinge an (gemessen von der Ansatzstelle des Hypokotyls am Wurzelhals bis zum distalen Rand der gestreckten Kotyledonen):

Tage nach der Aussaat	4	6	8	10	12	15
Etioliert (Länge in mm)	14	33	62	79		
Belichtet (Länge in mm)	14	29	36	47	54	54

Die Verfolgung der Farbstoffbildung in den etiolierten Keimlingen war nur bis zum 10. Tage möglich, da ältere Keimlinge Anzeichen von Erschöpfung zeigten und für die Atmungsmessung nicht mehr verwendet werden konnten.

Die Atmungsintensität (Abb. 3) erreicht bei belichteten und etiolierten Keimlingen um den 4. Tag ihr Maximum. Der respiratorische Quotient (RQ) hat um diese Zeit eine Größe von 0,55—0,60 und nähert sich mit fortschreitender Entwicklung dem Werte 1. Bei belichteten Keimlingen ist die Atmungsintensität im Zeitpunkt des Maximums

größer, unterscheidet sich jedoch im Verlauf der weiteren Entwicklung nicht mehr wesentlich von der Atmungsgröße der Etiolierten.

Vergleicht man die Kurven für die Atmung mit der Abb. 2, so kann man daraus entnehmen, daß zwar die Atmungsintensität dann besonders groß ist, wenn auch die Anthocyanbildung in vollem Gange ist (zwischen dem 3. und 5. Tag), daß aber trotz sinkender Atmungsgröße die Farbstoffbildung noch einige Zeit weiterläuft. Auch die folgenden Versuche haben ergeben, daß das Atmungsmaximum immer etwas früher als das Maximum der Anthocyanmenge erreicht wird.

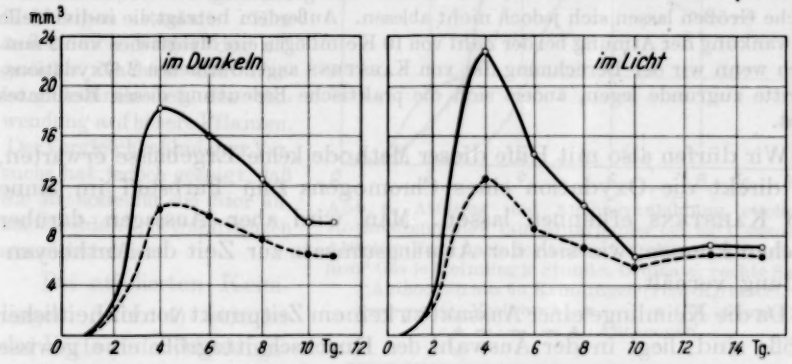


Abb. 3. Atmung von Rotkohlkeimlingen (im Dunkeln bei 25° C gemessen. Es sind die Keimlinge verwendet worden, deren Anthocyangehalt in Abb. 2 wiedergegeben ist. Keimwurzel entfernt). Abszisse: Tage nach der Aussaat. Ordinate: mm³ Gas je Keimling je Stunde. o——o O_2-Verbrauch, ● — — — — ● CO_2-Abgabe.

Auf den ersten Blick scheint sich also kein möglicher Zusammenhang zwischen Anthocyansynthese und Atmung zu zeigen. Man kann jedoch damit rechnen, daß die energie- und sauerstoffverbrauchenden Vorgänge überwiegend in die frühe Phase der Farbstoffsynthese fallen. Dann käme der späten Bildungsphase die Bedeutung einer von Atmung und Stoffumsatz relativ unabhängigen „Ausfärbung" zu.

Der Vorgang der oben erwähnten Ausfärbung ist von verschiedenen Autoren als Oxydation eines Chromogens aufgefaßt worden (vgl. Robinson 1937; Karstens 1939). Wenn wir bei der Bildung des Anthocyans aus einem Chromogen einen einfachen Oxydationsschritt annehmen, so können wir wenigstens größenordnungsmäßig eine Berechnung des für einen solchen Schritt notwendigen Sauerstoffes durchführen und feststellen, ob dieser mit der hier angewandten Methode erfaßbar ist.

Das Molekulargewicht des Rotkohlanthocyans ist nach Chmielewska 866. Um ein Mol Anthocyanvorstufe zu oxydieren, sind 16 g Sauerstoff nötig. Wir nehmen das Molekulargewicht des Chromogens mit 850 (866—16) an[1]. In der

[1] Die Möglichkeit, daß es sich bei dem Vorgang um eine Dehydrierung handeln könnte und das Mol.-Gewicht des Chromogens dementsprechend mit 868 angesetzt werden müßte, ändert an dem Resultat der folgenden Betrachtung nichts.

Arbeit von Frey-Wyssling und Blank liegen Angaben über Gewichtsmengen von gebildetem Rotkohlanthocyan vor, die auf den Keimling bezogen sind. Die maximale Anthocyanmenge im etiolierten Keimling beträgt etwa 15 γ. Nach eigenen Versuchen wird diese Menge bei 24stündiger Belichtung im günstigsten Falle verdreifacht. Zur Atmungsmessung werden je Warburg-Gefäß 10 Keimlinge verwendet. Diese bilden in den 24 Std der Belichtung eine Gewichtsmenge von rund 300 γ Anthocyan. Für einen einfachen Oxydationsschritt sind für diese 300 γ etwa 6 γ Sauerstoff nötig, die bei den Versuchsbedingungen ungefähr einen Raum von 4 mm³ einnehmen. Da die Gefäßkonstante um 2 liegt, entspricht diesem Volumen eine abgelesene Manometerdifferenz von 2 mm in 24 Std. Die Versuchsdauer der einzelnen Messung beträgt im allgemeinen 2 Std, so daß in dieser Zeit nur der 12. Teil der berechneten Menge Sauerstoff verbraucht wird. Solche Größen lassen sich jedoch nicht ablesen. Außerdem beträgt die individuelle Schwankung der Atmung bei der Zahl von 10 Keimlingen ein Mehrfaches von 2 mm. Auch wenn wir der Berechnung die von Karstens angenommenen 2 Oxydationsschritte zugrunde legen, ändert sich die praktische Bedeutung dieses Resultates nicht.

Wir dürfen also mit Hilfe dieser Methode keine Ergebnisse erwarten, die direkt die Oxydation eines Chromogens zum Farbstoff im Sinne von Karstens erkennen lassen. Man wird aber Aussagen darüber machen können, wie sich der Atmungsumsatz zur Zeit der Anthocyanbildung verhält.

Da die Keimlinge einer Aussaat zu keinem Zeitpunkt von einheitlicher Größe sind, liegt in der Auswahl der Durchschnittsgröße eine gewisse Willkür. Aus diesem Grunde gibt das oben unter a) (S. 256) beschriebene Verfahren den zeitlichen Verlauf der Atmung während der Entwicklung eines Keimlings nicht mit Sicherheit eindeutig wieder. In den folgenden Versuchen ist deshalb entsprechend den Angaben unter b) (S. 256) verfahren worden. Diese Anordnung hat 2 Vorteile: 1. Der Gang der Atmung im Entwicklungsverlauf kann immer am gleichen Keimling verfolgt werden. 2. Auf Filterpapier gezogene Pflanzen können schon in früheren Entwicklungsstadien zur Messung herangezogen werden als solche, die in Sand aufwachsen.

Es wurden 3 verschiedene Ansätze verwendet: 1. Keimlinge im Dauerlicht, 2. etiolierte Keimlinge, 3. etiolierte Keimlinge, die zu einem gegebenen Zeitpunkt ins Licht gestellt wurden.

Der 3. Fall wurde deshalb für wesentlich erachtet, weil hier mit einer besonders hohen Farbstoffproduktion in kurzer Zeit gerechnet werden konnte. In Vorversuchen war festgestellt worden, daß der Anthocyangehalt etiolierter Keimlinge, die im Zeitpunkt der stärksten Pigmentproduktion in Dauerlicht gebracht wurden, bei einsetzender Belichtung sehr schnell anstieg. Auch Leuko-Anthocyane traten dabei wieder auf.

Entsprechend den 3 angegebenen Reihen wurden Keimlinge als Parallelmaterial in Petri-Schalen herangezogen, von denen jeweils 60 Stück zur Farbstoffbestimmung dienten. Sie wuchsen unter gleichen Bedingungen auf wie die Pflanzen,

die zur Atmungsmessung verwendet wurden. Die Bestimmung des CO_2-Verbrauchs wird dadurch etwas unsicher, daß sich in einem Gefäßpaar zur gleichen Zeit nie einheitliches Material hinsichtlich der Größe befindet. Es wird also die abgelesene Differenz $O_2 - CO_2$ (für $RQ < 1$) auf einen Sauerstoffwert bezogen, der nicht von den gleichen Keimlingen stammt. Hier äußert sich wieder der allgemeine Nachteil der Warburg-Technik bei der Anwendung auf höhere Pflanzen. Der Vergleich zahlreicher Versuche hat jedoch gezeigt, daß die Methode für die hier anzustellenden Betrachtungen ausreichend ist.

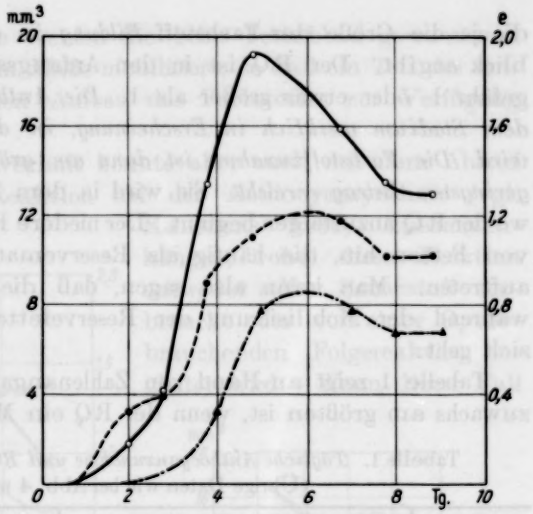


Abb. 4. Atmung und Anthocyanbildung etiolierter Rotkohlkeimlinge (auf Filterpapier bei 23° C gezogen). Abszisse: Tage nach der Aussaat. Ordinate, linke Skala: mm³ Gas je Keimling je Stunde. Ordinate, rechte Skala: Anthocyan aus 60 Keimlingen (1 cm-Küvette). ○——○ O_2-Verbrauch; ●·····● CO_2-Abgabe; ▲—·—·—▲ Anthocyan.

Bei etiolierten Keimlingen (Abb. 4) stimmt der Verlauf der Atmungs- und Anthocyankurven gut überein und er könnte Schlüsse über mögliche Zusammenhänge nahelegen. Der Anthocyangehalt nimmt zu, solange auch die Atmungsintensität ansteigt, und er bleibt annähernd gleich, wenn die Atmung wieder abnimmt.

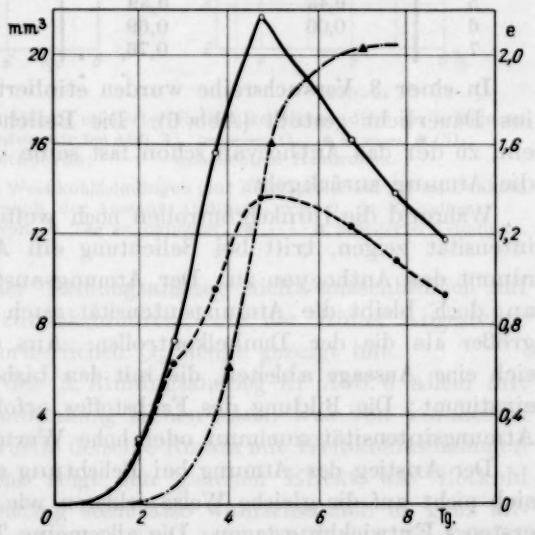


Abb. 5. Atmung und Anthocyanbildung von Rotkohlkeimlingen, die im Licht aufgewachsen sind (übrige Daten wie bei Abb. 4). ○——○ O_2-Verbrauch; ●·····● CO_2-Abgabe; ▲—·—·—▲ Anthocyan.

Bei den im Licht gewachsenen Keimlingen (Abb. 5) sind die Kurven für die Atmung in ihrem Verlauf denen von Abb. 4 ähnlich, aber die Anthocyanbildung steigt hier noch an, wenn die Atmungsgrößen schon zurückgehen. Eine wesentliche Übereinstimmung beider Anthocyankurven (Abb. 4 und 5) ergibt sich jedoch, wenn man die *Steigung* betrachtet,

die ja die Größe der Farbstoff-*Bildung* in dem betreffenden Augenblick angibt. Der RQ ist in den Anfangsstadien der Keimung ungefähr 1 oder etwas größer als 1. *Die Anthocyansynthese tritt erst in dem Stadium merklich in Erscheinung, in dem der RQ kleiner als 1 wird. Die Farbstoffzunahme ist dann am größten, wenn der RQ seinen geringsten Betrag erreicht.* Sie wird in dem Zeitpunkt wieder kleiner, wo der RQ anzusteigen beginnt. Der niedere RQ deutet auf den Umsatz von Fetten hin, die häufig als Reservematerial in Cruciferensamen auftreten. Man kann also sagen, daß die Anthocyansynthese nur während der Mobilisierung der Reservefette in größerem Maße vor sich geht.

Tabelle 1 zeigt an Hand von Zahlenangaben, daß der Anthocyanzuwachs am größten ist, wenn der RQ ein Minimum durchläuft.

Tabelle 1. *Tägliche Anthocyanzunahme und RQ bei Rotkohlkeimlingen.* (Übrige Daten wie bei Abb. 4 und 5.)

Alter in Tagen	Etiolierte Keimlinge		Belichtete Keimlinge	
	AC-Zunahme	RQ	AC-Zunahme	RQ
2	—	> 1	—	1,00
3	0,06	0,81	0,10	0,75
4	0,27	0,63	0,51	0,65
5	**0,45**	**0,59**	**0,99**	**0,64**
6	0,06	0,69	0,31	0,73
7	—	0,76	0,12	0,77

In einer 3. Versuchsreihe wurden etiolierte Keimlinge am 5. Tage ins Dauerlicht gestellt (Abb. 6). Die Belichtung setzt zu einer Zeit ein, zu der das Anthocyan schon fast seine volle Ausbildung hat und die Atmung zurückgeht.

Während die Dunkelkontrollen noch weiter abnehmende Atmungsintensität zeigen, tritt bei Belichtung ein Anstieg auf. Gleichzeitig nimmt das Anthocyan zu. Der Atmungsanstieg hält nur etwa 1 Tag an, doch bleibt die Atmungsintensität auch in den folgenden Tagen größer als die der Dunkelkontrollen. Aus dieser Beobachtung läßt sich eine Aussage ableiten, die mit den bisherigen Ergebnissen übereinstimmt: Die Bildung des Farbstoffes erfolgt dann, wenn auch die Atmungsintensität zunimmt oder hohe Werte aufweist.

Der Anstieg der Atmung bei Belichtung etiolierter Keimlinge läßt sich nicht auf die gleiche Weise erklären wie der Hauptanstieg in den ersten 4 Entwicklungstagen. Die allgemeine Tendenz einer abnehmenden Atmungsgröße und einer Annäherung an den RQ 1 bleibt erhalten. Mit einem erneut einsetzenden Fettabbau ist nicht zu rechnen. Sicherlich gehen aber unter Belichtung neue Synthesen in den Keimlingen vor sich, mindestens diejenige des Chlorophylls. Im Gefolge dieser offenbar energieverbrauchenden Synthesen wird auch wieder Anthocyan

aufgebaut. Möglicherweise werden die beim Fettabbau gewonnenen Zuckerreserven in erhöhtem Maße mobilisiert, so daß ein Teil des umgesetzten Materials für den Aufbau des Farbstoffes zur Verfügung stehen kann.

Der beobachtete Sachverhalt könnte aber auch mit dem Ablauf einer photochemischen Reaktion bei der Anthocyansynthese (vgl. KARSTENS 1939) zusammenhängen, wobei diese Reaktion entweder selbst Sauerstoff verbraucht oder von einer O_2-verbrauchenden Folgereaktion begleitet wird. Wenn dieser Fall

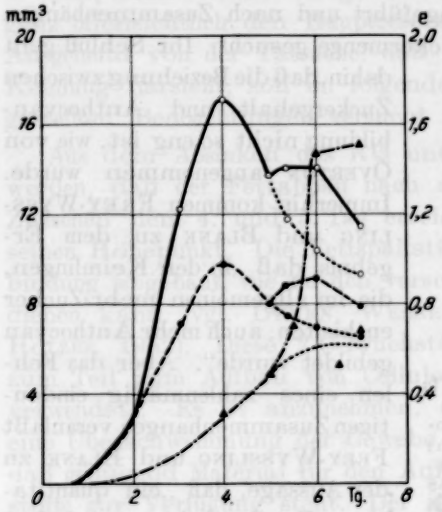


Abb. 6.

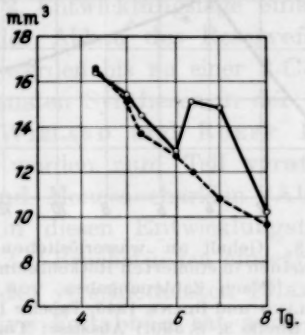


Abb. 7.

Abb. 6. Atmung und Anthocyanbildung etiolierter Rotkohlkeimlinge, die vom 5. Tage an belichtet wurden (übrige Daten wie bei Abb. 4). o——o O_2; ● — — — ● CO_2; ▲ —·—·— ▲ Anthocyan; ····· unbelichtete Kontrollen.

Abb. 7. Sauerstoffverbrauch von Weißkohlkeimlingen (auf Filterpapier bei 23° im Dunkeln gezogen). Abszisse: Tage nach der Aussaat. Ordinate: mm³ O_2 je Keimling. o——o Etiolierte Keimlinge, vom 6. Tag an belichtet. ●·····● Etiolierte Keimlinge.

zutreffen sollte, so ist der Atmungsanstieg nicht ausschließlich auf einen solchen Vorgang zurückzuführen, wie die früher angestellte Berechnung der dazu erforderlichen O_2-Menge gezeigt hat.

Um festzustellen, ob der 2. Atmungsanstieg in Abb. 6 allein mit dem Anthocyan in Zusammenhang stehen kann, was von vornherein unwahrscheinlich schien, wurde derselbe Ansatz mit Weißkohlkeimlingen wiederholt. Der Weißkohl zeigt den gleichen Effekt wie Rotkohl (Abb. 7). Der Atmungsanstieg steht also wahrscheinlich in ganz allgemeinem Zusammenhang mit Synthesen, die entweder wie das Chlorophyll Licht benötigen oder wenigstens vom Licht begünstigt werden. Es ist nicht ausgeschlossen, daß im Weißkohl an Stelle des Anthocyans andere Flavanderivate gebildet werden. Es wurde aber auch beobachtet, daß der Weißkohlkeimling durchaus zur Bildung von Anthocyan befähigt ist, wenn auch nur in sehr geringem Umfang. Am Rande der Kotyle-

donen befindet sich eine schmale Zone von anthocyanführenden Zellen. Der distale Rand der Keimblätter ist am stärksten gefärbt. Dies ist auch der Ort, wo sich im Rotkohlkeimling das Anthocyan in besonders starker Konzentration befindet.

2. *Reservestoffe, Anthocyan und Atmung.*

FREY-WYSSLING und BLANK haben beim keimenden Rotkohl quantitative Zuckerbestimmungen durchgeführt und nach Zusammenhängen zwischen Anthocyangehalt und Zuckermenge gesucht. Ihr Schluß geht dahin, daß die Beziehung zwischen Zuckergehalt und Anthocyanbildung nicht so eng ist, wie von OVERTON angenommen wurde. Immerhin kommen FREY-WYSSLING und BLANK zu dem Ergebnis, daß „in den Keimlingen, die im allgemeinen mehr Zucker enthielten, auch mehr Anthocyan gebildet wurde". Aber das Fehlen eines zahlenmäßig eindeutigen Zusammenhanges veranlaßt FREY-WYSSLING und BLANK zu der Aussage, daß „ein quantitativer Zusammenhang zwischen Zucker- und Anthocyangehalt höchst fraglich erscheint".

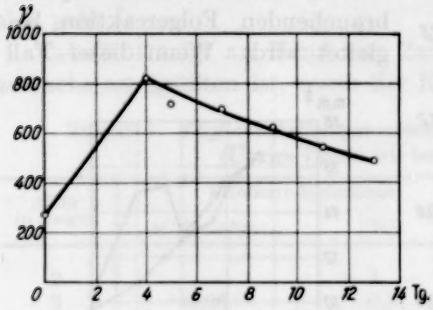


Abb. 8. Gehalt an wasserlöslichen Monosacchariden in etiolierten Rotkohlkeimlingen; 30° C. (Nach Zahlenangaben von FREY-WYSSLING und BLANK 1943, Tabelle 1, S. 558 und Tabelle 3, S. 560.) Abszisse: Tage nach der Aussaat. Ordinate: γ Glucose je Keimling (Methode von HAGEDORN-JENSEN).

FREY-WYSSLING und BLANK sind jedoch auf *einen* Zusammenhang nicht eingegangen. Die Zuckerwerte zeigen das stärkste Ansteigen während einer Zeit, in der auch der Farbstoffgehalt am stärksten zunimmt.

In Abb. 8 sind die von FREY-WYSSLING und BLANK angegebenen Zuckermengen — für Keimlinge, die bei 30° aufwuchsen — graphisch dargestellt. Bei dem Vergleich dieser Kurve mit den hier vorliegenden Atmungskurven (Abb. 3 und 4) ergibt sich eine allgemeine Übereinstimmung im Verlauf. Der gesteigerte Stoffwechsel hängt also mit dem Auftreten von löslichen Monosacchariden zusammen.

FREY-WYSSLING und BLANK schreiben die Steigerung der Zuckermengen in den ersten 4 Entwicklungstagen einer Umwandlung von Kohlenhydratreserven zu (S. 571). Sie sprechen auch davon, daß im Rotkohlsamen bedeutende Kohlenhydratreserven in Form von Stärke vorhanden seien (S. 561). Nach eigenen Beobachtungen läßt sich Stärke in den Rotkohlsamen nicht nachweisen, auch wenn man Vorsichtsmaßnahmen gegen eine eventuell sehr aktive Amylase trifft. Die

Samen wurden trocken zerrieben und danach sofort mit Jod angefärbt. Um auch eine mögliche Störung der Jodprobe durch andere Sameninhaltsstoffe auszuschalten, wurde Jod im Überschuß angewendet und in einer Kontrolle dem Samenextrakt verdünnte Stärkelösung zugegeben. Danach hätte die Jod-Stärke-Färbung wenigstens für die Dauer einiger Minuten auftreten müssen, wenn Stärke vorhanden gewesen wäre.

Statt dessen konnte ein gelbliches, fettes Öl gewonnen werden, das ganz offensichtlich den Hauptreservestoff des Rotkohlsamens bildet. Ausgehend von der Tatsache, daß Fett das Reservematerial bei der Keimung darstellt, soll im folgenden eine Deutung der bisher festgestellten Beobachtungen versucht werden.

Aus dem Absinken des RQ unter den Wert 1 kann geschlossen werden, daß der Fettabbau nach dem 2. Entwicklungstage einsetzt. Zwischen dem 4. und 5. Tag erreicht der Abbau des Reservefettes seinen Höhepunkt. Die Fettspaltstücke werden bis zu einer 2-C-Verbindung abgebaut, die zu den verschiedensten Synthesen in der Zelle dienen kann (vgl. Lynen, Wessely, Wieland und Rueff 1952; Holzer 1952). Diese 2-C-Bruchstücke werden zum Teil veratmet, zum Teil zum Aufbau von Cellulose und Monosacchariden (Abb. 8) verwendet[1]. Es ist anzunehmen, daß in diesen Entwicklungstagen eine Überschwemmung der Gewebe mit 2-C-Bruchstücken einsetzt, so daß genügend Material für den Aufbau der verschiedensten Pflanzenstoffe zur Verfügung steht. Der intensive Fettabbau hat auch eine reichliche Versorgung des Keimlings mit synthetisch nutzbarer Energie zur Folge. Aus dem anfallenden Material und aus den verfügbaren energiereichen Bindungen werden Synthesen gespeist, zu denen auch die Anthocyanbildung gehören kann. Später klingt die Fettmobilisierung aus, und es bleibt kein überschüssiges Material mehr, um Nebenkanäle des Stoffwechsels zu versorgen. Die Anthocyansynthese hört auf. Auch die Bildung von Monosacchariden ist beendet. Zuckergehalt, 2-C-Spiegel und Atmung sinken.

Der bis dahin aus den Veränderungen des RQ erschlossene Verlauf des Fettabbaues bei der Keimung konnte mit Hilfe von quantitativen Fettbestimmungen bestätigt werden. Die graphisch dargestellten Verhältnisse (Abb. 9) zwischen Abbau des Reservefettes und Anthocyanbildung in etiolierten Keimlingen zeigen, daß die Farbstoffsynthese

[1] Auch der RQ gibt einen Hinweis darauf, daß während des Fettabbaues eine Synthese von Kohlenhydraten erfolgt. Für die vollständige Oxydation einer der in Cruciferensamen vorherrschenden Fettsäuren (vgl. Bonner 1950, S. 361) ist ein RQ von etwa 0,7 kennzeichnend. Der Umbau einer Fettsäure in Kohlenhydrat geht ohne CO_2-Entwicklung, aber unter O_2-Verbrauch vor sich. Deshalb muß beim Ablauf beider Umsetzungen der $RQ < 0{,}7$ werden. Das ist tatsächlich der Fall.

erst mit der Abnahme des Fettgehaltes einsetzt und daß die intensivste Anthocyanbildung tatsächlich im Stadium des stärksten Fettumsatzes auftritt. Die gleichen Verhältnisse finden sich auch bei Keimlingen, die im Licht aufgewachsen sind.

Je 100 Rotkohlsamen[1] bzw. Rotkohlkeimlinge wurden in der Reibschale mit etwas Quarzsand zerrieben, im Falle von Keimlingen unter Zusatz von wasserfreiem Na_2SO_4 zur Aufnahme des Wassers, und der Extraktion im Soxhlet-Gerät unterworfen. Als Extraktionsmittel diente Tetrachlorkohlenstoff. Nach 6stündiger Extraktion wurde das Lösungsmittel abdestilliert. Der Fettrückstand wurde mit Äthyläther aufgenommen und quantitativ in kleine Wägegläschen gespült, die nach Verdunsten des Äthers und einstündiger Trocknung bei 70° C gewogen wurden.

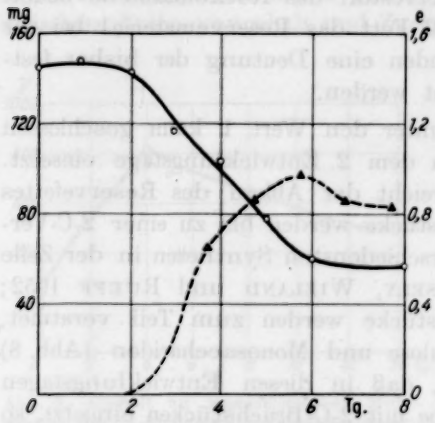


Abb. 9. Fettgehalt und Anthocyanbildung etiolierter Rotkohlkeimlinge (auf Filterpapier bei 21° C gezogen). Abszisse: Tage nach der Aussaat. Ordinate, linke Skala: mg Fett je 100 Keimlinge. Ordinate, rechte Skala: Anthocyan aus 60 Keimlingen. o——o Fett, ▲- - - -▲ Anthocyan.

Die „Fett"-Bestimmung erfaßte alle ätherlöslichen Inhaltsstoffe. Es kann jedoch angenommen werden, daß Verbindungen wie Carotinoide, Chlorophylle usw. im Verhältnis zum Reservematerial in quantitativer Hinsicht eine sehr geringe Rolle spielen und daß somit die Kurve im wesentlichen den Verlauf des Fettumsatzes wiedergibt.

3. Die Abhängigkeit der Anthocyanbildung von der Temperatur.

Aus der Tatsache, daß die Anthocyane in vegetativen Organen besonders im Frühjahr und Herbst auftreten, hat man geschlossen, daß die Anthocyansynthese durch tiefe Temperaturen begünstigt wird. KUILMAN (1930) lieferte experimentelle Beiträge zu der Vorstellung von einer Begünstigung der Anthocyansynthese durch Kälte. Bei Keimlingen von Buchweizen (*Fagopyrum esculentum* MOENCH) läuft die Farbstoffbildung bei 20° C (im Dunkeln nach vorausgegangener Belichtung) zwar schneller ab als bei 4—6° C, es werden aber bei der niederen Temperatur viel größere Mengen an Farbstoff gebildet. KUILMAN erklärt dieses Phänomen mit der Konkurrenz von 2 Reaktionen um das Chromogen. Bei höheren Temperaturen soll ein größerer Anteil des vorhandenen Chromogens in eine andere Verbindung übergehen. Der günstige Einfluß kühler Dunkelperioden auf die Anthocyanbildung wurde auch an Früchten beobachtet. Die Rötung am Baum reifender

[1] Für diese Versuche mußten Keimlinge der Sorte „Haco" (1952) herangezogen werden, da die bisher verwendete Sorte „Amerikanische Mammuth" nicht mehr zu beschaffen war.

Äpfel wird durch tiefe Nachttemperaturen (+ 7° C) gefördert. Bei 25° C mittlerer Nachttemperatur bleibt die Anthocyanbildung aus (UOTA 1952).

Dagegen geht aus den Versuchen von KATIC (1905) hervor, daß die Farbstoffsynthese in vielen Fällen durch höhere Temperaturen begünstigt wird. Bei *Hydrilla verticillata* konnte unter sonst optimalen Bedingungen niemals Anthocyanbildung beobachtet werden, wenn die mittlere Temperatur weniger als 16° C betrug. FREY-WYSSLING und BLANK heben diesen Widerspruch durch ihre Vorstellung auf, daß alle Pflanzen bezüglich der Anthocyanbildung ein eigenes Temperaturoptimum besitzen, das wahrscheinlich mit dem Optimum des Stoffwechsels zusammenfällt.

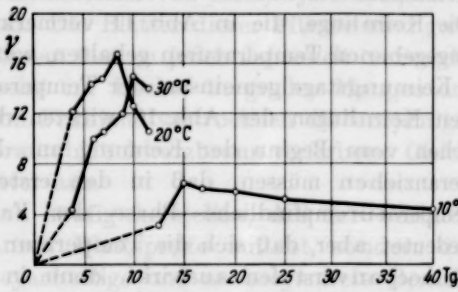


Abb. 10. Anthocyangehalt in etiolierten Rotkohlkeimlingen bei verschiedenen Temperaturen. (Nach FREY-WYSSLING und BLANK.) Abszisse: Alter in Tagen. (Die Meßpunkte entsprechen der Reihe nach einer Keimlingsgröße von 20, 30, 40, 55, 65 und 80 mm.) Ordinate: γ Anthocyan je Keimling.

FREY-WYSSLING und BLANK kamen zu dem Ergebnis, daß das Temperaturoptimum für die Farbstoffbildung im Rotkohlkeimling zwischen 10 und 30° C liegt. In der Versuchsreihe bei 20° C war die Anthocyanbildung am stärksten. Es heißt bei FREY-WYSSLING und BLANK: „In den Keimlingen, die bei 10° C wuchsen, wurde nicht einmal die Hälfte des bei 20 und 30° C gebildeten Anthocyans gemessen. Einer langsamen Anthocyanbildung entspricht bei 10° C auch eine wesentlich verlangsamte Abnahme des Farbstoffes im Hungerstoffwechsel." (Vgl. Abbildung 10.)

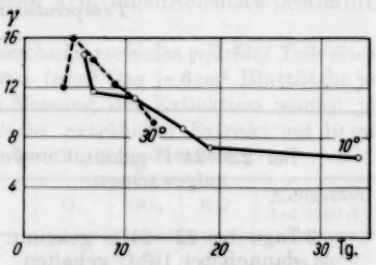


Abb. 11. Anthocyangehalt in etiolierten Rotkohlkeimlingen bei verschiedenen Temperaturen. Die Keimlinge beider Reihen wurden während der ersten 72 Std bei 20° C gehalten. (Übrige Angaben wie bei Abb. 10.) (Nach Zahlenangaben von FREY-WYSSLING und BLANK.)

Betrachtet man jedoch die Zahlen der Tabelle 2 in der Arbeit von FREY-WYSSLING und BLANK (S. 558), in der gerade Angaben über die Extremwerte der angewendeten Temperaturen vorliegen, so findet man 1. daß die Produktion bei 10° C nicht wesentlich erniedrigt ist gegenüber derjenigen bei 30° C; 2. daß die Abnahme im Hungerstoffwechsel in beiden Reihen ungefähr gleich schnell verläuft und nur bei den Keimlingen länger verfolgt werden kann, die bei der niederen Temperatur im Dunkeln länger lebensfähig sind.

Die Ergebnisse dieser Tabelle 2 (S. 558) sind in gleichem Maßstab wie Abb. 10 unter Zuhilfenahme der Tabelle 1 von FREY-WYSSLING und BLANK in Abb. 11 dargestellt. Bei dem Vergleich dieses Ergebnisses mit demjenigen von Abb. 10 muß beachtet werden, daß zwischen beiden Versuchsreihen ein Unterschied in der Versuchsanordnung besteht: Die Keimlinge, die in Abb. 11 vermerkt sind, wurden zwar bei den angegebenen Temperaturen gehalten, waren jedoch während der ersten 3 Keimungstage gemeinsam der Temperatur von 20° C ausgesetzt. Bei den Keimlingen der Abb. 10 wirkten die angeführten Temperaturen schon vom Beginn der Keimung an. Man wird also die Erklärung heranziehen müssen, daß in den ersten 3 Entwicklungstagen eine temperaturempfindliche Phase der Farbstoffbildung besteht. Das bedeutet aber, daß sich die Temperatur nur während der Bildung der Anthocyanvorstufen auswirkt, denn in den ersten 2—3 Tagen der Keimung wird kaum Anthocyan sichtbar. Wahrscheinlich sind gerade die frühen Phasen der Umwandlung von Reservestoffen für die Menge des später gebildeten Anthocyans maßgebend. Hält man die ausgelegten Samen schon während der Anfangszeit der Keimung bei verschiedenen Temperaturen, so läuft der Umsatz der Reservestoffe mit verschiedener Geschwindigkeit an und liefert schon in den ersten Tagen unterschiedliche Mengen von Material für die Anthocyansynthese.

Diese Vorstellung wird durch eigene Messungen unterstützt (Tabelle 2).

Tabelle 2. *Anthocyanbildung etiolierter Rotkohlkeimlinge bei verschiedenen Temperaturen.* (In Flußsand gezogen.)

	Tage nach der Aussaat	Länge mm	Anthocyan (60 Keimlinge)
Bei 22—24° C gekeimt und aufgewachsen	5	30	1,07
	7	40	1,10
	9	70	1,44
3 Tage bei 22—24° C gekeimt, danach bei 10° C gehalten	9	30	0,72
	12	40	0,85
	17	60	0,80
Bei 10° C gekeimt und aufgewachsen	12	25	0,39
	17	50	0,55
	24	70	0,57

Beim Umstellen von 22° auf 10° C waren die Wurzeln ausgetreten, die Hypokotyle noch nicht sichtbar. — Zur Farbstoffbestimmung wurden je 60 Keimlinge mit salzsaurem Alkohol (p_H 2,5) extrahiert. (Die bei 10° C gezogenen Pflanzen eigneten sich nicht für wäßrige Extraktion, weil das Filtrat trüb durchlief. Dieser Mißstand wurde durch Verwendung von salzsaurem Alkohol beseitigt.)

IV. Untersuchungen über Atmung und Anthocyanbildung bei Blättern von *Saxifraga crassifolia* L.

1. Lokalisation des Anthocyans.

Für die vorliegenden physiologischen Untersuchungen über die Anthocyanbildung hat sich Blattmaterial von *Saxifraga crassifolia* L. als besonders geeignet erwiesen. Die Blätter dieser Pflanze sind groß, bilden viel Anthocyan und können fast zu jeder Jahreszeit verwendet werden. Der Farbstoff erscheint im Herbst in großen Mengen und hält sich den Winter über. Im Frühjahr vertrocknen die vorjährigen Blätter, wobei sie sich dunkelbraun bis schwarzbraun verfärben. Gleichzeitig treiben die jungen Blätter aus.

An dieser Pflanze läßt sich häufig feststellen, daß der Farbstoff nicht gleichmäßig in der ganzen Blattspreite auftritt, sondern daß sich im gleichen Blatt anthocyanhaltige und anthocyanfreie Bereiche finden können. Das Anthocyan entwickelt sich in den Teilen besonders stark, die in reichem Lichtgenuß stehen. Es handelt sich um dasselbe Phänomen, das bei vielen herbstroten Gewächsen auftritt, so z. B. bei den *Parthenocissus*-Arten. Bei *Saxifraga* können auch in den Zeiten der stärksten Rötung noch grüne Blätter oder wenigstens grüne Teile von Blättern gefunden werden. Das Anthocyan tritt in der Epidermis und im Mesophyll auf. Leuko-Anthocyane sind nur in geringer Menge vorhanden.

2. Atmung grüner und roter Blattabschnitte.

Aus einem *Saxifraga*-Blatt, das grüne und rote Bereiche besaß, wurden flächengleiche Stücke ausgeschnitten, deren Atmungsintensität bestimmt wurde (Tabelle 3)[1].

Tabelle 3. *Gaswechsel verschieden gefärbter Teile eines Saxifraga-Blattes* (mm³ Gas je 6 cm² Blattfläche je Stunde). (Zur Messung der Extinktion wurden je 12 cm² Blattfläche extrahiert; Extrakt auf 10 ml aufgefüllt; 2 cm-Küvette.)

	O_2	CO_2	RQ	Extinktion bei 5300 Å
Grüne Teile . .	32	35	1,09	0,02
Rote Teile . .	46	50	1,09	3,32

Sowohl Sauerstoffverbrauch als auch CO_2-Produktion sind in geröteten Blattbereichen gegenüber den grünen deutlich erhöht. Der RQ verhält sich in beiden Fällen gleich. Auch für *Saxifraga crassifolia* treffen also ähnliche Verhältnisse zu, wie sie bei verschiedenen anderen Objekten beobachtet worden sind (vgl. Paech 1950, S. 191).

Dieses Resultat hat eine Parallele im Stoffwechsel reifender Früchte. Wenn auch bei manchen Früchten (z. B. Banane, Citrone) die Farbänderung während der Reifung nur auf dem Hervortreten von Carotinoiden

[1] Das Blatt war am 27. 11. bei einer Temperatur von + 2° C gepflückt und langsam an die Versuchstemperatur von 25° C angeglichen worden.

nach dem Chlorophyllabbau beruht, so setzt doch in vielen fleischigen Früchten mit der Reifung auch eine lebhafte Farbstoffsynthese ein. Das gilt sowohl für die Polyenfarbstoffe in den Plastiden (z. B. *Solanum Lycopersicum*, *Sorbus aucuparia* u. a.) als auch für die Vacuolenpigmente (z. B. in den *Vaccinium*-Arten, in *Rubus fruticosus*, *Sambucus nigra* u. v. a.)[1]. Neben diesem auffälligen Merkmal der Verfärbung ist für die Fruchtreifung auch eine Veränderung der Atmungsintensität kennzeichnend. Im Verlauf der Reifung tritt bei vielen Früchten ein charakteristischer Atmungsanstieg auf, der in der angelsächsischen Literatur als „climacteric rise" bezeichnet wird und zuerst bei Äpfeln beobachtet wurde (KIDD und WEST 1921; vgl. PAECH 1952, S. 275). Dieses Phänomen scheint in vielen Fällen gerade während der Verfärbung aufzutreten. Eine deutliche Beziehung zwischen dem Atmungsklimakterium und der Carotinoidsynthese geht aus den Angaben von WOLF (1938) über die Fruchtreifung bei *Sorbus hybrida* hervor. Tabelle 4 zeigt, daß auch die Anthocyanbildung bei Früchten in eine Phase erhöhter Atmungsintensität fällt.

Tabelle 4. *Atmungsgröße der Steinfrüchte von Sambucus nigra im Verlauf der Reifung* (mm³ Gas je 10 Früchte je Stunde). (Messung vom 20. 9.; bei 20°C Wasserbadtemperatur.)

	O_2	CO_2	RQ
Grün	74	66	0,89
Hellbraun und grün .	128	127	0,99
Dunkelbraun	165	190	1,15
Schwarzrot	152	209	1,37

Im Unterschied zu den *Saxifraga*-Blättern steigt bei den Holunderfrüchten der Atmungsquotient im Verlauf der Verfärbung an. Das trifft auch für verschiedene andere Früchte zu (WOLF 1938; vgl. PAECH 1952, S. 277/78).

Blätter von *Parthenocissus vitacea* HITCHCOCK zeigen wieder Verhältnisse, die denen von *Saxifraga*-Blättern ähnlich sind. Sowohl Messungen an verschiedenen Fingern eines Blattes zu verschiedenen Zeiten des Rötungsprozesses als auch Versuche mit gleichzeitig verschieden ausgefärbten Teilen eines Blattes ergaben eine Steigerung der Atmungsintensität hinsichtlich des O_2-Verbrauches und der CO_2Produktion ohne bedeutende Veränderungen des respiratorischen Quotienten (Tabelle 5).

Es scheint also, als zeigten Früchte und Blätter bei der Reifung bzw. Alterung in ähnlicher Weise den Effekt des „climacteric rise". Ein Unterschied zwischen beiden besteht darin, daß bei Früchten auch der RQ ansteigt und Werte über 1 erreichen kann, während der RQ der Blätter relativ unverändert bleibt. Die Phase der Verfärbung fällt bei Früchten und Blättern mit dem Atmungsanstieg zeitlich

[1] Lediglich *Rubus chamaemorus* L. macht in dieser Hinsicht eine bemerkenswerte Ausnahme. Der rote Farbstoff in unreifen Moltebeeren verschwindet im Verlauf der Reifung.

Tabelle 5. *Atmungsintensität der Blätter von Parthenocissus vitacea* (mm^3 Gas je 10 cm^2 Blattfläche je Stunde) (bei 25° C).

	O_2	CO_2	RQ
I. Verschiedene Finger eines Blattes			
8. Oktober: rein grün	32	32	1,00
24. Oktober: beginnende Rötung[1]	47	45	0,96
II. Gleichzeitig verschieden gefärbte Finger eines Blattes. 9. Oktober			
Grüne Teile: Extinktion 0,14	61	57	0,94
Braungrüne Teile[1]: Extinktion 0,51 . . .	72	72	1,00

[1] Die braungrüne Färbung ging im allgemeinen in leuchtendes Rot über, die Messungen konnten jedoch an den bezeichneten Blättern nicht fortgesetzt werden, da sie einem Frost zum Opfer fielen.

zusammen. Die Anthocyansynthese ist also nicht nur in Keimlingen sondern auch in alternden Geweben mit einem verstärkten Stoffwechsel verknüpft.

3. Auslösung der Anthocyansynthese durch Zuckerfütterung. Licht- und Temperatureinfluß.

Die Förderung der Anthocyansynthese durch Zuckerfütterung ist seit den Versuchen Overtons bei verschiedenen Pflanzen beobachtet worden (Blank 1951; Thimann, Edmondson und Radner 1951). Danner (1940) hat in seinen Untersuchungen über die Physiologie des Arbutins bei *Saxifraga crassifolia* sowohl eine Anreicherung des Hydrochinonglucosides als auch eine Rötung der Blätter bei künstlicher Zuckerzufuhr beschrieben. Die Möglichkeit, durch Fütterung mit Rohrzucker die Anthocyanbildung jederzeit hervorrufen zu können, macht *Saxifraga crassifolia* zu einem besonders geeigneten Objekt für die Untersuchung der Farbstoffsynthese. In Tabelle 6 ist die Stärke der Rötung nach 5 Tagen auf 0,1 molarer Rohrzuckerlösung durch die Anzahl der Kreuze ausgedrückt. Die Unterschiede sind bedeutend und für eine Beurteilung leicht mit dem Auge abschätzbar.

Tabelle 6. *Rötung von Teilen eines grünen Saxifraga-Blattes nach 5 Tagen auf 0,1 mol Rohrzucker.* (Jede Probe 10 Blattstücke von je 1 cm^2; Versuch vom 12. 12.).

	Wasser	Rohrzucker
10° C Dunkel . .	—	—
24° C Dunkel . .	—	++
24° C Dauerlicht	(+)[1]	+++

[1] Auf Wasser entsteht Anthocyan nur dann, wenn die allgemeine Tendenz zur Ausfärbung der Blätter groß ist. So trat am 12. 12. eine Rötung auf, während die Wasserkontrollen z. B. am 2. 7. rein grün blieben.

Es geht daraus hervor, daß Licht zwar nicht unentbehrlich für die Ausfärbung ist, daß es jedoch die Anthocyanbildung fördert. Dieser Sachverhalt trifft auch für viele andere Objekte zu (z. B. Rotkohl.

keimlinge). Andererseits bilden Pflanzen wie der Buchweizen Anthocyan nur nach Belichtung aus. Ein ganz ähnliches Verhalten gegenüber Licht kann man auch bei der Bildung von Carotinoiden beobachten. Hier gibt es unter den Pilzen Vertreter, die zur Carotinoidsynthese Licht benötigen *(Neurospora sitophila)*, während für andere Licht nicht erforderlich ist, aber fördernd wirkt *(Neurospora crassa)*. *Phycomyces* produziert im Dunkeln ungefähr halb so viel Carotin wie unter sonst gleichen Bedingungen im Licht. Bemerkenswert ist, daß es sich hier um heterotrophe Organismen handelt, und ein Chlorophylleffekt ausgeschlossen ist (Goodwin 1952). Vielleicht ergeben sich auch bei der Untersuchung weiterer sekundärer Pflanzenstoffe solche Verhältnisse. Für das Hydrochinonglucosid Arbutin liegen entsprechende Angaben bereits vor (Danner 1940).

Das Ausbleiben der Färbung bei 10° C hätte auch darauf beruhen können, daß der Zucker bei dieser Temperatur von den Geweben gar nicht aufgenommen wurde. Es mußte deshalb geprüft werden, ob bei 10° C im Dunkeln so viel Zucker aufgenommen wird, daß unter optimalen Bedingungen ohne weitere Zuckerzufuhr Anthocyan entstehen kann. Zu diesem Zweck wurden die Blattstücke, die 5 Tage bei 10° C auf Zucker gehalten worden waren, am 6. Tag mit Wasser abgespült und auf Wasser schwimmend bei 24° C ins Licht gebracht. Erste Rötungszeichen traten schon am nächsten Tage auf, nach 2 Tagen war die Rötung über die ganze Blattfläche ausgedehnt. Das beweist, daß die Intrabilität des Zuckers bei der niederen Temperatur nicht gehemmt ist.

Während einerseits in dem Versuch der Tabelle 6 zum Ausdruck kommt, daß der Pigmentierungsvorgang in *Saxifraga*-Blättern auf Zuckerlösung nur bei höherer Temperatur vor sich geht, zeigt andererseits die Beobachtung der Pflanzen im Freiland, daß die Hauptfarbstoffproduktion in die kühlere Jahreszeit fällt. Dieser Widerspruch könnte durch die Annahme geklärt werden, daß der Einfluß niederer Temperaturen während einer längeren Zeitspanne günstige Ausgangsbedingungen für die Anthocyansynthese in den Geweben schafft, daß aber die Synthese selbst bei höheren Temperaturen schneller abläuft. Die „günstigen Ausgangsbedingungen" bestehen vielleicht in ähnlichen Verhältnissen, wie sie für die Kartoffelknolle beschrieben worden sind. Bei Temperaturen über 10° C bleibt der Stärkegehalt der Knolle bei 14tägiger Lagerung nahezu unverändert, während zwischen 0 und 10° C die Stärke rasch abnimmt und der Rohrzuckergehalt ansteigt. Auch p_H-Änderungen können für solche Schwankungen des Stärke-Zucker-Gleichgewichtes verantwortlich sein. Die Wasserstoffionenaktivität beeinflußt das Reaktionsgleichgewicht der Phosphorylasereaktion. Erhöhung der Acidität begünstigt die Stärkesynthese. In der Arbeit von Kessler (1935) liegt für *Saxifraga cordifolia* in dieser Hinsicht Material vor.

Osmotischer Wert und p_H-Wert der Blätter zeigen in allen Jahreszeiten eine weitgehende Parallelität. Während der Herbstmonate steigen beide Größen an. Ihr Anstieg fällt zeitlich mit der stärksten Anthocyanbildung zusammen. Diese Übereinstimmung legt die Deutung nahe, daß während der kühleren Jahreszeit hydrolytische (oder phosphorolytische) Prozesse vorherrschen, die eine reichliche Zuckerversorgung zur Folge haben und für die Anthocyansynthese günstig sind, weil sie die Voraussetzungen für eine erhöhte Stoffwechselintensität schaffen (vgl. Tabelle 3).

Es sei noch die allgemeine Beobachtung hinzugefügt, daß die Farbstoffbildung auf Zuckerlösung in den Spätherbstmonaten und im Winter am schnellsten, im Mai und Juni am langsamsten vor sich geht. Diese unterschiedliche Reaktion der Blätter zu verschiedenen Jahreszeiten kann entweder darauf beruhen, daß die Konzentration von Stoffen, die zur Anthocyansynthese herangezogen werden, jahreszeitlich schwankt, oder darauf, daß die Verwendung des gebotenen Zuckers jahreszeitlich verschieden ist. Dabei könnte der Entwicklungszustand der Blätter — besonders im Hinblick auf Celluloseaufbau und Stärkespeicherung — eine Rolle spielen.

4. Die Beeinflussung der Atmungsintensität durch Wundränder.

Um ein leichtes Eindringen des Zuckers zu erzielen und um flächengleiches Material in die Warburg-Gefäße einführen zu können, wurden aus den Blättern quadratische Blattstücke ausgestanzt. Es ist denkbar, daß die Verwundung bei dem Ausschneiden der Blattstücke von einer gewissen Bedeutung für Anthocyanbildung und Atmung ist. Man kann häufig beobachten, daß Anthocyan an Verletzungsstellen auftritt. Grüne Blätter von *Saxifraga crassifolia* haben an verletzten Randstellen oft einen schmalen, roten Farbhof. Da die Methodik ähnliche Verhältnisse schafft, muß die Frage aufgeworfen werden, worin die Wirkung von Schnitträndern bei der Farbstoffproduktion und bei der Atmung bestehen könnte. Für die Anthocyansynthese werden die Wundränder in erster Linie die Aufnahme des dargebotenen Zuckers erleichtern. In den meisten Fällen ist daher der Beginn der Rötung an den Rändern zu beobachten. Es kommt jedoch auch vor, daß sich Blattstücke ziemlich gleichzeitig über die ganze Fläche verfärben.

Daß die Schnittwirkung noch in anderer Hinsicht bei der Pigmentbildung mitspielt, könnte aus einer Beziehung zwischen Schnittrandlänge und Atmung abgelesen werden. In dem in Tabelle 7 gezeigten Effekt kommt ein erhöhter

Tabelle 7. *Der Einfluß von Wundrändern auf die Atmung (mm³ O_2/Std).* (Es wurden 4 flächengleiche Stücke eines grünen *Saxifraga*-Blattes untersucht, von denen 2 in je 9 gleich große Einzelstücke zerlegt, die beiden andern zunächst unzerteilt verwendet wurden; 24°C).

	mm³ O_2		mm³ O_2
1 Blattstück 9 cm²	22	nach Zerteilen	31
1 Blattstück 9 cm²	24	in 9 Blattstücke	32
9 Blattstücke je 1 cm²	33		33
9 Blattstücke je 1 cm²	33		32

Stoffumsatz bei Verletzung zum Ausdruck, sofern man nicht annehmen will, daß die Schnittränder lediglich die Gasdiffusion erleichtern. Eine Verdreifachung der Schnittrandlänge hat eine Erhöhung der Atmung um etwa 40% zur Folge. Dieser erhöhte Stoffwechsel könnte durchaus einen Einfluß auf die Farbstoffsynthese haben. Verletzung allein — ohne Zugabe von Zucker — führt allerdings nicht zur Anthocyanbildung, ausgenommen in den Fällen, in denen das verwendete Material schon natürlicherweise eine starke Tendenz zur Farbstoffbildung zeigt, nämlich im Winter.

Es muß also festgehalten werden, daß mit den angegebenen Werten für die Atmungsgröße in keinem Fall der *Saxifraga*-Versuche die Atmung des unverletzten Blattes gemeint sein kann. Der durch die Schnittwunden hinzugekommene Faktor dürfte sich aber aufheben, da das in den Versuchen verglichene Material jeweils dieselbe Gesamtlänge an Schnitträndern besitzt. Sowohl hinsichtlich der Farbstoffmengen als auch der Atmungsgrößen ist daher ein Vergleich solcher Proben berechtigt.

5. Atmung und Anthocyanbildung bei künstlicher Zuckerzufuhr.

Es hatte sich herausgestellt, daß die Farbstoffbildung schneller vor sich geht, wenn die Blattstücke gleich zu Beginn des Versuches mit Zuckerlösung infiltriert werden (Kontrollen mit Wasser infiltriert). Deshalb wurde dieses Verfahren bei allen folgenden Versuchsreihen angewandt.

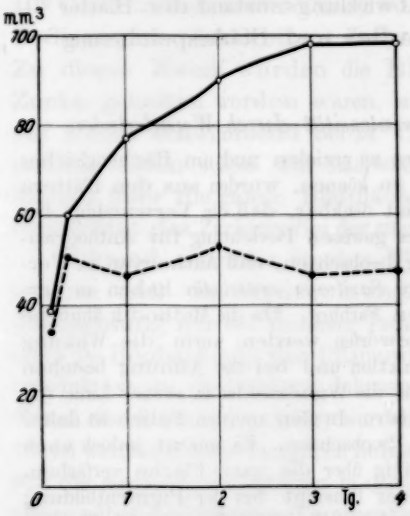


Abb. 12. Atmung von Teilen eines grünen *Saxifraga*-Blattes auf 0,1 mol Rohrzuckerlösung. mm³ O_2 je 6 cm² Blattfläche je Stunde. (Das Material wurde bei 22°C im Dauerlicht gehalten; übrige Angaben wie bei Tabelle 8.) Versuch vom 11.—15. 3. Anthocyan nur auf Zucker gebildet. o——o Zucker; ●- - - - - ● Wasser.

Tabelle 8. *Anthocyanbildung und Atmung von Teilen eines grünen Saxifraga-Blattes auf 0,1 mol Rohrzuckerlösung (mm³ Gas je 6 cm² Blattfläche je Stunde).* (Das Material wurde bei 21° C im Dauerlicht gehalten, die Atmung bei 24° C im Dunkeln gemessen; 1. Messung vor, 2. Messung nach der Infiltration; Anthocyan aus je 10 Blattstücken; Versuch vom 1.—10. 3.)

Tag	Zucker		Wasser	
	O_2	CO_2	O_2	CO_2
1.	46	49	49	45
3.	64	65	53	51
4.	83	81	54	52
5.	92	90	61	58
6.	102	109	64	61
7.	124	119	73	69
8.	122	119	64	61
10.	122	121	60	62
10. Extinktion:	2,08		0,20	

Bevor die Blattstücke auf die entsprechenden Lösungen kamen, wurde das Ausdunsten der Interzellularen nach der Infiltration abgewartet.

Tabelle 8 zeigt den Verlauf der Atmung von Blattstücken auf Zuckerlösung. Während die Blättchen auf Wasser nach 10 Tagen nur schwach rötlich waren, trat auf Zucker eine tiefe, durchgehende Rötung auf.

Die Anthocyansynthese ist von einer verstärkten Atmung begleitet. Der RQ unterliegt gewissen Schwankungen, weist jedoch keinen Gang auf.

Der leichte Atmungsanstieg bei den Wasserkontrollen wurde auch in Wiederholungsversuchen beobachtet (Abb. 12). Er wird auf die Verletzung oder auf die Veränderung der Hydraturverhältnisse zurückzuführen sein.

Eine Korrelation zwischen Anthocyanbildung und Atmung besteht also nicht nur bei der natürlichen Verfärbung des *Saxifraga*-Blattes, sondern auch bei der experimentell erzeugten Pigmentierung. Ein entsprechender Zusammenhang zeigt sich auch, wenn man das Verhalten verschiedener Blattabschnitte auf Zuckerlösung untersucht. Es besteht zwar kein ausgeprägter Gradient zwischen Basis und Spitze eines Blattes in bezug auf Atmung und Anthocyanbildung, doch geht aus Tabelle 9 wiederum eine Parallelbeziehung beider Größen hervor.

Tabelle 9. *Atmung und Anthocyanbildung von Blattstücken aus dem apikalen, mittleren und basalen Bereich von grünen Saxifraga-Blättern auf 0,1 mol Rohrzuckerlösung.* (Das Material wurde bei 24° C im Dauerlicht gehalten; Atmungsmessung bei 24° C im Dunkeln). Mittelwert aus 2 Blättern. Anthocyan aus je 10 Blattstücken (10 cm^2 Blattfläche); Sauerstoffverbrauch: mm^3 O_2 je 10 cm^2 Blattfläche je Stunde. Die täglich gemessenen Werte sind addiert. Versuch vom 25.—30. 4.

	O_2-Verbrauch	Anthocyan
Spitze	1039	0,81
Mitte	1058	0,88
Basis.	928	0,70

6. Atmung bei Zuckerzufuhr im Licht und im Dunkeln.

Nachdem eine Übereinstimmung im Verhalten von Anthocyanbildung und Atmung auf Zuckerlösung festgestellt worden war, blieb zu prüfen, ob die Verwertung des gebotenen Zuckers — wie sie in der Atmung zum Ausdruck kommt — im Licht und im Dunkeln unterschiedlich verläuft (Tabelle 10).

Tabelle 10. *Atmung von Teilen eines grünen Saxifraga-Blattes auf 0,1 mol Rohrzuckerlösung. Das Material wurde bei 25° C im Licht bzw. im Dunkeln gehalten.* (mm^3 O_2 je 10 cm^2 Blattfläche je Stunde.) (Atmungsmessung bei 24° C, 1. Messung vor, 2. Messung nach der Infiltration; Verdunkelung der Dunkelprobe nach Infiltration und nach Ausdunsten der Interzellularen.)

Tag	Zucker		Wasser	
	Licht	Dunkel	Licht	Dunkel
7. 7. vor Inf.	111	117	113	115
7. 7. nach Inf.	133	130	133	128
8. 7.	184	130	123	114
9. 7.	177	132	104	97
10. 7.	172	170	92	120

Wir bemerken hier die auffallende Erscheinung, daß die Atmung im Licht früher ansteigt, und können daraus schließen, daß der gebotene Zucker im Licht schneller verwertet wird als im Dunkeln. Die Parallelität von Atmung und Anthocyansynthese ist auch hier deutlich: beide

Vorgänge sind im Licht gesteigert, im Dunkeln kommt es dagegen erst nach längerer Zeit zu einem Atmungsanstieg und die Farbstoffbildung ist gering. Während bei dem angeführten Versuch im Dunkeln noch kein Anthocyan auftrat, setzte die erste Rötung der Blattstücke im Licht am 2. Versuchstage ein. Mit Zucker behandelte *Saxifraga*-Blätter können aber auch im Dunkeln Anthocyan bilden (vgl. Tabelle 6).

Es gibt eine Reihe von Erklärungsmöglichkeiten für dieses Phänomen der Atmungssteigerung im Licht. Man könnte an eine vom Zucker unabhängige Veränderung des Plasma- und damit des Fermentzustandes der Gewebe denken. Ein Einfluß von Assimilaten ist bei dem Überschuß an gebotenem Atmungsmaterial nicht zu erwarten. Für die Farbstoffbildung auf Zucker im Licht konnte gezeigt werden, daß ein Mangel an atmosphärischem CO_2 die Ausfärbung nicht verhindert. In die verschlossenen Petrischalen, in denen die Blattstücke auf Zuckerlösung schwammen, wurde eine kleine Schale mit KOH (11%) eingestellt. Die Pflanzen zeigten jedoch genau so ausgeprägte Farbstoffbildung wie die Blättchen auf Zucker ohne Beigabe von KOH.

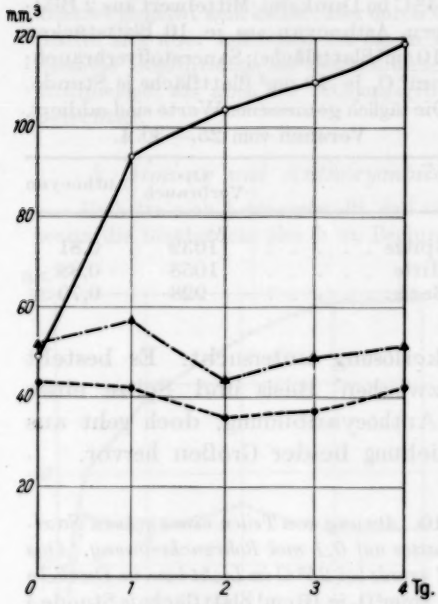


Abb. 13. Atmung von *Saxifraga*-Blattstücken auf 0,1 mol Rohrzucker bzw. d-Mannit. mm³ O_2 je 6 cm² Blattfläche je Stunde. (Das Material wurde bei 24° C im Dauerlicht gehalten; Messung bei 24° C im Dunkeln; Versuch vom 25.—29. 3.). o——o Zucker; ▲—·—·—▲; Mannit; ●·····● Wasser.

Die Erhöhung der Permeabilität durch Belichtung kann zu einer erhöhten Wasser- und Elektrolytaufnahme führen. Damit könnte auch eine verstärkte Zuckeraufnahme verbunden sein. Setzt man jedoch die Blattstücke, die im Dunkeln auf Zuckerlösung schwammen, von der Lösung ab und bringt sie unter Belichtung in eine feuchte Kammer, so zeigen die vorher grünen Blätter eine sehr rasche Farbstoffbildung. Es muß also auch im Dunkeln genügend Zucker aufgenommen worden sein. Das Licht scheint in dieser Beziehung nicht auf dem Wege über eine Permeabilitätserhöhung zu wirken.

Es könnte noch an die Wirkung von Spaltöffnungsbewegungen auf die Atmungsgröße gedacht werden. Die Messung von vorher belichteten Blättern über mehrere Stunden im Dunkeln ließ jedoch keine Verminderung der Atmungsintensität erkennen, so daß dieser Faktor als Erklärung ausgeschlossen werden kann.

7. Die Wirkung anderer Verbindungen auf die Anthocyanbildung.

Um festzustellen, ob der Zuckereffekt nicht etwa auf einer Reizung durch osmotische Veränderungen oder auf einer anderen unspezifischen Wirkung beruht, wurde auch 0,1 mol d-Mannit zugeführt. Mannit übt weder einen Einfluß auf die Anthocyanbildung noch auf die Atmung aus (Abb. 13). Nach wenigen Tagen waren die Blattstücke auf Zucker tiefrot, auf Mannit blieben sie ebenso wie auf Wasser grün.

0,1 mol Natriumacetat (gepuffert auf p_H 6,0) führt innerhalb einer Woche zu einer starken Bräunung und Schädigung der Gewebe. Rötung tritt zu keinem Zeitpunkt auf. Dieselbe Erscheinung ruft eine Versorgung mit 6×10^{-2} mol Citronensäure (mit NaOH auf p_H 6,0 gepuffert) hervor. Auch in DANNERS Versuchen hatte Citronensäure keinen fördernden Einfluß auf die Anthocyanbildung.

0,1 mol Glycerin fördert die Anthocyanbildung bei Blattstücken von *Saxifraga crassifolia*.

8. Die Wirkung von Jodessigsäure auf die Anthocyansynthese.

Die weitgehende Parallelität von Zuckerumsatz und Farbstoffbildung deutet zwar darauf hin, daß die Abbauprodukte oder der Energiegewinn aus dem Kohlenhydratumsatz eine Voraussetzung für die Anthocyansynthese sind, schließt aber die Möglichkeit nicht aus, daß das Zuckermolekül unabhängig von diesen Prozessen als Ganzes in die Synthese eingeht. Eine Aufklärung darüber, ob lediglich eine Zuckeranhäufung für die Anthocyanbildung entscheidend ist, konnte von der Hemmung des glykolytischen Abbaues durch Jodessigsäure erwartet werden.

Die Behandlung der Blattstücke mit 4×10^{-4} bis 8×10^{-4} molarer Jodessigsäure vom Beginn des Versuches an erwies sich als unbrauchbar. Die Zeit bis zum Einsetzen der Anthocyanbildung wurde von den vergifteten Blättern im allgemeinen nicht ohne Schädigung ertragen, obwohl die Atmung niemals vollständig gehemmt ist. Es war deshalb nötig, die Versuchsanordnung so zu treffen, daß das Pflanzenmaterial bei Versuchsende noch in frischem, turgeszentem Zustand angetroffen werden konnte.

Die Blattstücke wurden auf Zuckerlösung gebracht und bis zum Einsetzen der Farbstoffbildung darauf belassen. Dann wurden von 4 vergleichbaren Proben aus demselben Blatt 2 extrahiert und die Anthocyanmenge bestimmt. Die Infiltration der beiden übrigen Proben mit 2×10^{-3} mol Jodessigsäure bzw. Wasser geschah zur gleichen Zeit. Diese Ansätze standen ohne Zuckerlösung in einer feuchten Kammer unter den gleichen Bedingungen wie in den Tagen vor der Infiltration. Nach einem weiteren Tag wurde die Farbstoffzunahme bestimmt (Abb. 14).

Die Atmung sinkt nach der Jodessigsäurebehandlung ab, und es wird kein weiterer Farbstoff mehr gebildet. Das Resultat unterstützt die Vorstellung, daß nur der umgesetzte Zucker bei der Anthocyansynthese wirksam ist. Da Jodessigsäure die Dehydrierung von 3-Phosphoglycerinaldehyd hemmt, kämen von den Spaltprodukten des Kohlenhydratabbaues nur die auf den Glycerinaldehyde folgenden als synthetisches Material für die Anthocyanbildung in Frage.

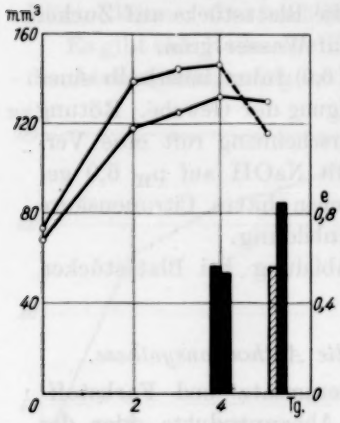


Abb. 14. Atmung und Anthocyanbildung von *Saxifraga*-Blattstücken bei Vergiftung mit Jodessigsäure (2×10^{-3} mol). Bis zum 4. Tag gleiche Behandlung auf 0,1 mol Rohrzuckerlösung bei 25° C im Dauerlicht, danach Infiltration mit JCH_2COOH bzw. H_2O. Ordinate links: O_2-Verbrauch je 10cm² Blattfläche und Stunde. o——o Auf Zucker allein, o- - - -o nach dem 4. Tage mit Jodessigsäure vergiftet. Ordinate rechts: Anthocyan aus 20 Blattstücken; am 4. Tag: Parallelproben, am 5. Tag: schwarze Säule = unvergiftete, schraffierte Säule = mit Jodessigsäure vergiftete Probe. (Versuch vom 17.—22. 5.)

Jodacetat unterbricht jedoch nicht nur den Abbau der Kohlenhydrate, sondern greift infolgedessen auch direkt hemmend in den Aufbau energiereicher Bindungen ein. Nach den neueren Vorstellungen über den Mechanismus der Triosephosphatdehydrierung (Holzer und Holzer 1952) muß der Reaktionshemmung durch Jodessigsäure in dieser Hinsicht eine erweiterte Bedeutung zugemessen werden. Die Bildung der Acyl-S-Gruppierung, die der Bildung der energiereichen Phosphatbindung vorausgeht, ist durch die Reaktion der Jodessigsäure mit den Sulfhydrylgruppen der Triosephosphatdehydrase unterbunden. Die Hemmung eines synthetischen Vorganges als Folge einer Vergiftung der Triosephosphatdehydrase braucht deshalb nicht (oder nicht nur) auf einem Fehlen der Abbauprodukte von 3-Phosphoglycerinaldehyd zu beruhen. Sie kann auch mit der Unterbrechung des Aufbaues von energiereichen Bindungen zusammenhängen. Es läßt sich deshalb zunächst nicht entscheiden, ob die Hemmung der Anthocyanbildung auf dem Fehlen von Kohlenhydratspaltprodukten oder auf dem Mangel an synthetisch nutzbarer Energie beruht.

9. Die Wirkung von 2,4-Dinitrophenol (DNP) auf die Anthocyansynthese.

Zur Klärung dieser Frage kann ein Eingriff in den Stoffwechsel dienen, der den Aufbau energiereicher Bindungen hemmt, ohne den oxydativen Abbau der Substrate zu unterbrechen. Mit 2,4-Dinitrophenol ist eine solche spezifische Hemmung zu erreichen. DNP bewirkt eine Entkoppelung von Dehydrierungs- und Phosphorylierungsvorgängen (Lipmann und Kaplan 1949; vgl. Kandler 1950). Der Aufbau von

energiereichen Phosphatbindungen ist blockiert, die Substrate werden ohne physiologisch sinnvolle Verwendung veratmet. Der Effekt ist — bei geeigneten Konzentrationen — eine Atmungsintensivierung, an der die DNP-Wirkung leicht erkannt werden kann. Sie beruht nach TERNER (1950) darauf, daß Synthesen aus den glykolytischen Spaltprodukten gehemmt sind und daß das in der Glykolyse anfallende Material der Oxydation über den Citronensäurekreislauf zugeführt wird.

Tabelle 11. *Wirkung von 10^{-3} mol DNP auf den O_2-Verbrauch von Saxifraga-Blattstücken* (mm^3 O_2 je 6 cm^2 Blattfläche je Stunde). (Das Material wurde bei 22° C im Dauerlicht gehalten; Atmungsmessungen bei 24° C im Dunkeln, 1. Messung vor, 2. Messung nach der Infiltration. Die Blattstücke lagen während der Versuchsdauer auf den angegebenen Lösungen. Versuch vom 11.—15. 3.)

Tag	H_2O	Zucker	DNP + H_2O	DNP + Zucker
1 vor Inf.	35	38	31	36
1 nach Inf.	51	59	120	88
2	47	77	122	138
3	53	89	97	141
4	48	98	81	106
5	48	98	69	77

Die an verschiedenen höheren Pflanzen mit DNP in vivo durchgeführten Untersuchungen (KANDLER 1950; vgl. EBERHARDT 1952) erhielten durch die Arbeit von BONNER und MILLERD (1953) eine bislang noch fehlende Grundlage. An Mitochondrien von *Phaseolus aureus* konnte gezeigt werden, daß DNP wie bei tierischen Mitochondrien auch in pflanzlichen Systemen die oxydative Bildung von ATP unterdrückt.

Tabelle 12. *Wirkung verschiedener DNP-Konzentrationen auf den Sauerstoffverbrauch von Saxifraga-Blattstücken* (mm^3 O_2 je 10 cm^2 Blattfläche je Stunde. Versuch vom 11. 6.)

DNP-Konzentration (molar)	Vor Infiltration	Nach Infiltration	Steigerung %
—	88,4	110,6	25
1×10^{-5}	88,4	109,3	23,6
3×10^{-5}	89,4	117,2	31,1
6×10^{-5}	86,6	131,4	51,8
1×10^{-4}	95,4	141,2	48,1
3×10^{-4}	101,4	167,0	64,6
6×10^{-4}	91,4	150,4	64,6
1×10^{-3}	98,4	120,3	22,3

STADLER (1942) hat ohne nähere Angaben über eine Wirkung von DNP auf die Anthocyansynthese berichtet. Die durch Glucose induzierte Bildung des Farbstoffes in Maisblattstücken wird durch DNP gehemmt. THIMANN, EDMONDSON und RADNER (1951) haben eine ähnliche Erscheinung bei *Spirodela* beschrieben. In diesem Fall wurde kein Zucker im Außenmedium geboten. Die genannten Autoren verwendeten DNP mit dem Ziel, eine Abnahme des internen Zuckergehaltes in den *Spirodela*-Geweben herbeizuführen. Die Anthocyanbildung der DNP-Kulturen blieb um 50% hinter derjenigen der Kontrollen zurück.

Bei *Saxifraga*-Blattstücken blieb zunächst die erwartete Atmungssteigerung aus, wenn die Blätter auf DNP (10^{-3}, 10^{-5} mol) oder auf Zucker und DNP gelegt wurden. Bei Karottenstückchen, die in 10^{-3} mol DNP eingelegt waren, führte die Behandlung sofort zur Atmungsintensivierung. Erst die Infiltration von DNP (10^{-3} mol) hatte bei *Saxifraga* den erwarteten Atmungsanstieg zur Folge (Tabelle 11).

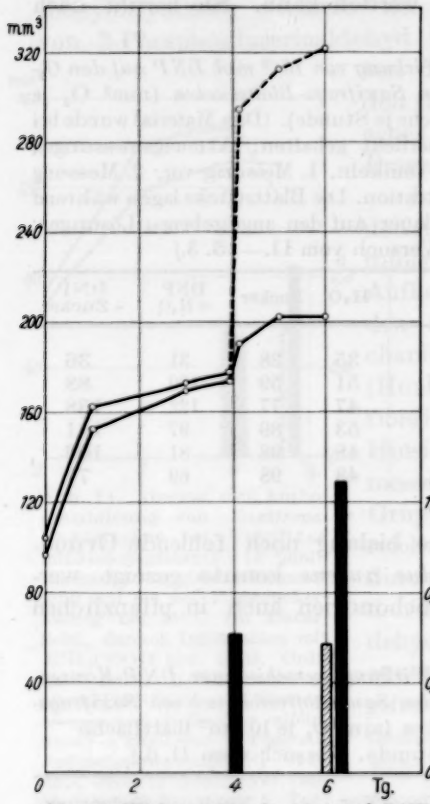


Abb. 15. Wirkung von 3×10^{-4} mol DNP auf Atmung und Anthocyanbildung von *Saxifraga*-Blattstücken (27. 6.—3. 7.). Bis zum 4. Tag gleiche Behandlung auf 0,1 mol Rohrzuckerlösung bei 24° C im Dauerlicht, danach Infiltration mit Zuckerlösung + DNP bzw. mit Zuckerlösung. Ordinate links: O_2-Verbrauch je 10 cm² Blattfläche und Stunde. o——o Auf Zucker. o- - - - -o auf Zucker + DNP. Ordinate rechts: Anthocyan aus 20 Blattstücken; Schwarze Säulen = auf Zucker, schraffierte Säule = nach dem 4. Tag auf DNP + Zucker.

Rötung trat nur mit Zucker allein auf. Die DNP-behandelten Stücke zeigten gegen Ende des Versuches Schädigungen (Bräunung). Da demnach DNP von dem Material über längere Zeitspannen nicht vertragen wurde, lag es nahe, die Methode anzuwenden, die sich bei Jodessigsäure bewährt hatte. Die Blattstücke wurden jedoch in diesem Falle auch nach der Vergiftung auf dem Substrat belassen, weil die Atmungssteigerung bei einmaliger Infiltration von DNP nach einiger Zeit abklingt, während sie bei Infiltration mit anschließendem Auflegen auf DNP-Lösung länger andauert.

Als schwächste, noch erheblich atmungssteigernde Konzentration wurde 3×10^{-4} mol festgestellt (Tabelle 12). DNP ist also in der gleichen Konzentration bei *Saxifraga*-Blättern wirksam, in der es auch die oxydative Phosphorylierung bei *Phaseolus*-Mitochondrien unterdrückt (BONNER und MILLERD 1953). Bei *Saxifraga crassifolia* hängt die wirksame Konzentration vom Entwicklungszustand des Blattes ab. So war bei alten, vorjährigen Blättern eine Konzentration von 10^{-3} mol noch atmungssteigernd (Tabelle 11), während bei jungen Blättern mit 10^{-3} mol der wirksame Konzentrationsbereich schon überschritten zu sein scheint.

Abb. 15 zeigt die Ergebnisse eines Versuches, bei dem die Behandlung mit DNP erst einsetzte, nachdem schon eine gewisse Menge Anthocyan

gebildet worden war (4. Tag). Die Untersuchung der weiteren Farbstoffzunahme zeigt, daß unter dem Einfluß von DNP kein Anthocyan mehr gebildet wird. Der oxydative Stoffumsatz ist verstärkt. Die Blattstücke waren am Ende des Versuches turgeszent und ohne Anzeichen von Schädigungen.

10. Die Wirkung von Jodessigsäure und von 2,4-Dinitrophenol auf die Anthocyanbildung in Geweben von Keimlingen.

Zur Ergänzung der an Blattgeweben gewonnenen Resultate wurden auch an Keimlingen Versuche mit spezifischen Hemmstoffen vorgenommen. Die Applikation von Stoffwechselgiften ist zwar bei Keimlingen schwieriger als bei Blattstücken, aber die rasche Anthocyanbildung in den verhältnismäßig widerstandsfähigen Keimlingen von *Fagopyrum esculentum* MOENCH ließ die Buchweizenkeimlinge für solche Versuche geeignet erscheinen.

In etiolierten Buchweizenkeimlingen tritt Anthocyan erst nach Belichtung auf. Es entwickelt sich dann jedoch innerhalb weniger Stunden im Dunkeln. Die Bedingungen für die Anthocyanbildung bei *Fagopyrum*-Keimlingen sind besonders von KUILMAN (1930) und von KARSTENS (1939) eingehend untersucht worden. Diese Autoren verwendeten immer ganze Keimlinge. Man kann aber auch in den abgeschnittenen Hypokotylen, ja selbst in sehr kurzen Hypokotylstücken durch Belichtung eine Rötung erzielen. Solche Hypokotylstücke lassen sich leicht mit Lösungen infiltrieren. Wenn man Hypokotylstücke etiolierter Keimlinge mit Wasser infiltriert und nach dem Ausdunsten der Interzellularen einige Stunden belichtet, so wird Anthocyan ausgebildet. Bei Infiltration mit 10^{-3} mol Jodessigsäure bzw. mit 3×10^{-4} mol DNP ist die Farbstoffbildung stark herabgesetzt oder unterbleibt vollständig.

11. Die Wirkung von 1-Amino-2-naphthol-4-sulfosäure (ANS) auf Atmung und Anthocyanbildung von Saxifraga-Blättern.

Es konnte damit gerechnet werden, daß die Infiltration von Carboxylasegiften (vgl. EBERHARDT 1952) zu einer Anhäufung von Intermediärprodukten führt, die eine Farbstoffsynthese begünstigen könnten. Die Anwendung von ANS[1] in Konzentrationen von 10^{-4} bis 10^{-2} mol bei Blattstücken von *Saxifraga crassifolia* hatte jedoch weder einen Effekt auf die Atmung noch auf die Anthocyanbildung. Der RQ blieb unverändert.

[1] Die saure Lösung von ANS wurde mit verdünnter KOH auf einen p_H-Wert von etwa 6 gebracht. Die Infiltration erfolgte bei Beginn der Rötung, nachdem die Blattstücke 2 Tage lang auf 0,1 mol Rohrzuckerlösung gelegen hatten.

V. Diskussion.

Die Untersuchungen des Gaswechsels und der Anthocyanbildung haben gezeigt, daß die Farbstoffproduktion an eine erhöhte Stoffwechselintensität geknüpft ist. Dabei ist es belanglos, ob Kohlenhydrate oder Fette zum Umsatz kommen. Bei Rotkohlkeimlingen fällt die Phase der stärksten Anthocyanproduktion mit dem Abbau der Samenfette zusammen, bei Blättern von *Saxifraga crassifolia* führt der Umsatz von künstlich zugeleiteten Kohlenhydraten zur Bildung von Anthocyan. Auch die Pigmentierung während der Fruchtreifung ist mit einer Stoffwechselaktivierung verbunden, bei der wahrscheinlich noch andere Substrate, z. B. organische Säuren, umgesetzt werden. Die wesentliche Voraussetzung für die Anthocyansynthese ist also nicht eine Zuckeranhäufung (Overton 1899) oder Zuckerstauung (Kenda u. a. 1953) in den Geweben, sondern ein verstärkter Umsatz der Substrate. Dafür spricht auch das Auftreten einer Atmungssteigerung bei der herbstlichen Blattrötung und das häufige Vorkommen von Anthocyan in stark wachsenden Organen, z. B. in kriechenden Sprossen von *Fragaria*- und *Potentilla*-Arten, und in Geweben von Pflanzengallen, wo ebenfalls mit einer erhöhten Atmungsintensität gerechnet werden kann (vgl. Klein 1952).

Wenn Kohlenhydrate erst auf dem Wege ihres Umsatzes die Anthocyanbildung fördern, so verliert damit die Ansicht Robinsons (1937), nach der jeder Kern des Anthocyanmoleküls von einer Hexose herkommen soll, an Wahrscheinlichkeit. Dasselbe trifft für die Hypothese zu, daß Glucose über Glucose-6-phosphat und m-Inosit-phosphat zu phenolischen Verbindungen führt (H. O. L. Fischer 1945, zit. bei Thimann, Edmondson und Radner 1951). Obwohl meso-Inosit in den *Spirodela*-Versuchen einen geringen fördernden Einfluß auf die Anthocyanbildung zeigte, weisen Thimann, Edmondson und Radner dem cyclischen Alkohol doch nicht die Rolle eines Intermediärproduktes bei der Farbstoffsynthese zu.

Auf welche Weise kann nun der intensivierte Stoffwechsel die Synthese von Anthocyanen beeinflussen? Wenn wir von der Möglichkeit absehen, daß die Stoffwechselsteigerung lediglich eine Umfärbung von Anthocyanvorstufen bedingt, so kann damit gerechnet werden, daß der umgesetzte Zucker bzw. andere umgesetzte Reservestoffe synthetisches Material für die Farbstoffbildung liefern. Der Fettumsatz wird dann 2-C-Bruchstücke für die Anthocyansynthese zur Verfügung stellen. Im Falle der Kohlenhydratveratmung werden die verwendeten Bausteine nach dem Umsatzschritt 3-Phosphoglycerinaldehyd → 3-Phosphoglycerinsäure abgezweigt. Dafür spricht die Hemmung der Farbstoffsynthese durch Jodessigsäure, vorausgesetzt, daß man nicht die Beteiligung von jodacetat-empfindlichen Enzymen am weiteren Anthocyan-

aufbau annehmen will, wofür keine Anhaltspunkte vorliegen. Bei Blattstücken von *Zea mays* begünstigen zwar Glycerinaldehyd und Glycerinsäure die Anthocyanbildung (STADLER 1942), bei *Spirodela* hatten jedoch verschiedene Zwischenprodukte des glykolytischen Abbaues bzw. Verbindungen, die ihnen chemisch nahestehen, keine fördernde Wirkung. Deshalb vertreten THIMANN, EDMONDSON und RADNER die Auffassung, daß die Umwandlung von Zuckern zum Farbstoff nicht auf dem Wege des normalen Kohlenhydratabbaues erfolgt. Die meisten der gefütterten Verbindungen hemmten jedoch das Wachstum der Kulturen (z. B. Glycerin, Glycerinphosphorsäure, Pyruvat). Auf Grund dieser Wachstumshemmungen muß damit gerechnet werden, daß die Verbindungen gar nicht in physiologischer Weise in den Umsatz einbezogen worden sind. Daß die Antohcyansynthese durch die genannten Substanzen nicht gefördert wurde, ist also bei Berücksichtigung der Begleiterscheinungen nicht überraschend und spricht nicht entscheidend gegen die Auffassung, daß Spaltprodukte des Kohlenhydratabbaues in die Anthocyansynthese eingehen.

Durch die Hemmung des glykolytischen Abbaues mit Hilfe von Jodessigsäure wird gleichzeitig die Bildung energiereicher Phosphatbindungen verhindert. Es kann also auch ein Mangel an solchen Bindungen für das Ausbleiben der Farbstoffbildung verantwortlich sein. Daß die Bedeutung der Jodessigsäurehemmung für die Anthocyansynthese in einer Unterbrechung des Energienachschubes zu suchen ist, wird durch die Wirkung von DNP unterstrichen. Bei *Saxifraga* ist die Anthocyanbildung ebenso wie bei Mais und bei *Spirodela* unter der Wirkung von DNP gehemmt. Für THIMANN, EDMONDSON und RADNER ist DNP in erster Linie ein Mittel, das den Zuckergehalt in den *Spirodela*-Geweben auf dem Wege einer verstärkten Oxydation herabsetzt. Von diesem Gesichtspunkt aus kann die DNP-Wirkung so verstanden werden, als sei die Anthocyanbildung gehemmt, weil die Konzentration an Kohlenhydraten durch DNP stark herabgesetzt wird. Bei Berücksichtigung der Tatsache, daß nicht Zuckergehalt, sondern Zuckerumsatz für die Anthocyanbildung entscheidend ist, muß aber die Bedeutung von DNP für die Farbstoffproduktion nicht in der Verminderung des Zuckergehaltes, sondern in einer Störung der Energieversorgung gesehen werden. Wie aus der Atmungssteigerung hervorgeht, vollzieht sich zwar während der DNP-Vergiftung ein verstärkter Kohlenhydratumsatz, der jedoch wegen der Unterdrückung der Energieverwertung für die Anthocyansynthese bedeutungslos bleibt.

Die Wirkung des Stoffumsatzes auf die Anthocyanbildung beruht mindestens zum Teil darauf, einen Überschuß an energiereichen Bindungen zu schaffen, der für energieverbrauchende Synthesen verwendet werden kann. Es darf damit gerechnet werden, daß die Energie

Phosphatbindungen entnommen wird, obwohl THIMANN, EDMONDSON und RADNER durch Veränderung der Phosphatkonzentration im Medium einen Phosphatbedarf für die Anthocyansynthese nicht nachweisen konnten.

Im Licht sind sowohl Stoffwechsel wie Anthocyanbildung verstärkt. In der vorliegenden Untersuchung ist der Lichteinfluß auf die Anthocyansynthese nur studiert worden, um ihn als weiteres Kriterium für die Parallelität von Atmung und Farbstoffbildung heranziehen zu können. Die Lichtwirkung als solche ist dadurch nicht erklärt worden. Dennoch kann die Beobachtung, daß künstlich zugeführtes Kohlenhydratsubstrat im Licht schneller umgesetzt wird als im Dunkeln, einen neuen Gesichtspunkt in dieser Frage ergeben. Eine Erklärungsmöglichkeit bietet sich an, wenn man mit KANDLER (1950) einen unmittelbaren Einfluß der Photosynthese auf den Phosphathaushalt annimmt. Dabei soll nicht an die CO_2-Reduktion, sondern nur an den photochemischen Vorgang gedacht werden. KANDLER hat bei *Chlorella pyrenoidosa* gefunden, daß ein Teil der bei der photochemischen Reaktion aufgenommenen Lichtenergie unmittelbar auf dem Wege über energiereiches Phosphat in chemische Energie umgewandelt wird. Wenn wir für Gewebe höherer Pflanzen ähnliche Annahmen machen und wenn im vorliegenden Fall die Anhäufung von Assimilaten bei dem Überschuß von Zucker im Medium für die Veratmung eine untergeordnete Rolle spielt, so käme man zu folgender hypothetischen Deutung:

„Mit dem Einsetzen der Belichtung wird in engem Zusammenhang mit der photochemischen Reaktion zusätzlich energiereiches Phosphat gebildet" (KANDLER), das dann dazu dienen kann, den gebotenen unphosphorylierten Zucker unter Phosphorylierung in den Umsatz einzubeziehen. Die Dunkelproben müssen mit ihrem geringeren Vorrat an energiereichem Phosphat diesen Vorgang durchführen. KANDLER selbst schlägt vor, bei der Beurteilung des Lichteinflusses auf die Farbstoffbildung solche energiereichen Photoprodukte ins Auge zu fassen. Eine derartige Erklärung würde dann auch die Lichtwirkung auf andere Synthesen, z. B. die des Arbutins, umfassen.

Die Tatsache, daß die Anthocyanbildung mit einem erhöhten Stoffumsatz verbunden ist, der die synthetische Energie liefert, läßt es möglich erscheinen, daß eine ähnliche Beziehung auch bei dem Aufbau anderer aromatischer Verbindungen besteht. Die Bedingungen für die Bildung von Arbutin sind denen für die Anthocyansynthese ähnlich. Die Erkenntnis der Polyflavanonstruktur des Lignins rückt auch diese Substanz in die Nähe des Problems der Anthocyangenese. PAECH (1950, S. 154) faßt allgemein für die Biogenese der aromatischen Pflanzenstoffe die Beteiligung der „synthesebegünstigenden Phosphorsäure" ins Auge. Diese Vorstellung wird durch die DNP-Versuche — wenigstens

für den Fall des Anthocyans — gestützt. Durch oxydative Phosphorylierung gebildetes ATP steht für die verschiedensten energieverbrauchenden Prozesse in der Pflanze zur Verfügung (BONNER und MILLERD 1953). Physiologische Vorgänge wie Wachstum, Wasseraufnahme und Anhäufung von Nährsalzen werden ebenso wie die Anthocyansynthese durch DNP unterdrückt. Bei einer durchschnittlichen Energieversorgung wird der Vorrat an energiereichen Phosphatbindungen bevorzugt den erstgenannten Prozessen zufließen. Ist das Energieangebot hoch, dann können auch für die Anthocyansynthese energiereiche Phosphatbindungen verfügbar werden.

Die Anthocyane sind also „Zeugen eines besonders intensivierten Stoffwechsels und nicht einfach einer erhöhten Stoffansammlung" (PAECH 1950). Damit ist auch der Gedanke von FREY-WYSSLING und BLANK, daß ein Zusammenhang von Zucker und Anthocyan nur „sekundärer Natur" sein könne — etwa: künstliche Zuckerzufuhr → gesteigerter Stoffwechsel → vermehrte Anthocyanbildung — durch das Experiment bestätigt und durch die Eingriffe in den Umsatz etwas näher bestimmt worden.

Zusammenfassung.

1. In Rotkohlkeimlingen vollzieht sich die Anthocyansynthese (bei 23° C) hauptsächlich zwischen dem 3. und 5. Keimungstag. In dieser Zeit erreicht auch die Atmungsintensität den größten Wert.

2. In Rotkohlkeimlingen ist die Farbstoffbildung dann am stärksten, wenn der respiratorische Quotient die geringsten Werte aufweist. Die Anthocyanproduktion fällt zeitlich mit dem Abbau der Reservefette zusammen.

3. Die Belichtung etiolierter Rotkohlkeimlinge hat sowohl einen Anstieg der Atmung als auch der Anthocyanbildung zur Folge.

4. Temperatureinflüsse machen sich besonders in den ersten Keimungstagen auf die Anthocyanproduktion bemerkbar, d. h. in den frühen Phasen der Mobilisierung von Reservefetten.

5. Bei herbstroten Blättern von *Saxifraga crassifolia* und von *Parthenocissus vitacea* ist die Atmungsintensität roter Teile größer als diejenige grüner Teile.

6. Die Anthocyanbildung in Holunderfrüchten fällt mit einer Atmungsintensivierung zusammen.

7. Die durch Zuckerfütterung bei *Saxifraga crassifolia* induzierte Anthocyanbildung ist von einer erhöhten Atmungsintensität begleitet.

8. Auf Zuckerlösung gelegte Blätter von *Saxifraga crassifolia* bilden im Licht mehr Anthocyan und die Atmung steigt im Licht rascher an als im Dunkeln.

9. In *Saxifraga*-Blättern werden Atmung und Anthocyansynthese durch 2×10^{-3} mol Jodessigsäure gehemmt.

10. 2,4-Dinitrophenol (3×10^{-4} mol) steigert die Atmung und hemmt gleichzeitig die Anthocyanbildung von *Saxifraga*-Blättern. Aus der DNP-Wirkung wird auf die Beteiligung von energiereichen Bindungen an der Anthocyansynthese geschlossen.

Herrn Prof. Dr. KARL PAECH danke ich für die Anregung zu dieser Arbeit und für wertvolle Ratschläge, durch die er die Untersuchung förderte.

Der Deutschen Forschungsgemeinschaft bin ich für die Bereitstellung einer Warburg-Apparatur zu Dank verpflichtet.

Literatur.

BLANK, F.: The anthocyanin pigments of plants. Bot. Review **13**, 241—317 (1947). — Über den Einfluß von Zuckerlösungen auf die Anthocyanbildung in Rotkohlkeimlingen. Ber. schweiz. bot. Ges. **61**, 49—51 (1951). — BONNER, J.: Plant Biochemistry. New York 1950. — BONNER, J., and A. MILLERD: Oxidative phosphorylation by plant mitochondria. Arch. of Biochem. **42**, 135—148 (1953). — DANNER, H.: Zur Physiologie des Arbutins. Bot. Archiv **41**, 169—202 (1940). — EBERHARDT, F.: Enzymgifte. Z. Bot. **40**, 332—339 (1952). — EDDY, B. P., and L. W. MAPSON: Some factors affecting anthocyanin synthesis in cress seedlings. Biochemic. J. **49**, 694—699 (1951). — FREY-WYSSLING, A., u. F. BLANK: Untersuchungen über die Physiologie des Anthocyans in Keimlingen von *Brassica oleracea* L. *var. capitata* L. *f. rubra* (L.). Ber. schweiz. bot. Ges. A **53**, 550—578 (1943). — GEISSMAN, T. A., and E. HINREINER: Theories of the biogenesis of flavonoid compounds. Bot. Review **18**, 77—244 (1952). — GOODWIN, T. W.: Fungal carotenoids. Bot. Review **18**, 291—316 (1952). — HOLZER, H.: Acetyl-Coenzym A und andere S-Acyl-Verbindungen bei der Energieausnützung in der lebenden Zelle. Angew. Chem. **64**, 248—253 (1952). — HOLZER, H., u. E. HOLZER: Zum Reaktionsmechanismus der Triosephosphatdehydrierung. Hoppe-Seylers Z. **291**, 67—86 (1952). — KANDLER, O.: Über den Einfluß von 2,4-Dinitrophenol auf Atmung und Wachstum in vitro kultivierter Maiswurzeln. Z. Naturforsch. **5b**, 338—344 (1950). — Über die Beziehungen zwischen Phosphathaushalt und Photosynthese. I. Z. Naturforsch. **5b**, 423—437 (1950). — KARSTENS, W. K. H.: Anthocyanin and anthocyanin formation in seedlings of *Fagopyrum esculentum* MOENCH. Rec. Trav. bot. néerl. **36**, 85—179 (1939). — KATIC, D.: Beitrag zur Kenntnis der Bildung des roten Farbstoffs (Anthocyan) in vegetativen Organen der Phanerogamen. Diss. Phil. Fakultät Halle a. d. S. 1905. — KENDA, G., I. THALER und F. WEBER: Panaschierung und herbstliche Anthocyanbildung. Phyton **4**, 319—321 (1953). — KESSLER, W.: Über die inneren Ursachen der Kälteresistenz der Pflanzen. Planta (Berl.) **24**, 312—352 (1935). — KIDD, F., and C. WEST: Reports of the Food Investigation Board London. 1921. — KLEIN, R. M.: Nitrogen and phosphorus fractions, respiration, and structure of normal and crown gall tissues of tomato. Plant Physiol. **27**, 335—354 (1952). — KLINKER, E. J.: A modification of the Warburg respirometer to measure the respiration rate of tomato leaf discs. Plant Physiol. **25**, 354—355 (1950). — KUILMAN, L. W.: Physiologische Untersuchungen über die Anthocyane. Rec. Trav. bot. néerl. **27**, 287—416 (1930). — LIPMANN, F., and N. O. KAPLAN: Intermediary metabolism of phosphorus compounds. Ann. Rev. Biochem. **18**, 267—298 (1949). — LYNEN, F., L. WESSELY, O. WIELAND u. L. RUEFF: Zur β-Oxydation der Fettsäuren. Angew. Chem. **64**, 687 (1952). — OVERTON, E.: Beobachtungen und Versuche über das Auftreten von rotem Zellsaft bei Pflanzen. Jb. wiss. Bot. **33**, 171—231 (1899). —

Paech, K.: Biochemie und Physiologie der sekundären Pflanzenstoffe. Berlin-Göttingen-Heidelberg 1950. — Biologische Grundlagen der Frischhaltung pflanzlicher Lebensmittel. In Handbuch der Kältetechnik, Bd. 9, S. 223—310. Berlin-Göttingen-Heidelberg 1952. — Paech, K., u. F. Eberhardt: Untersuchungen zur Biosynthese der Anthocyane. Z. Naturforsch. 7b, 664—670 (1952). — Robinson, R.: Formation of anthocyanins in plants. Nature (Lond.) **137**, 172—173 (1937). — Stadler, L. J.: Gene action in anthocyanin synthesis in maize. Amer. J. Bot. **29**, 17 (abstract) (1942). — Terner, C.: 2,4-Dinitrophenol in the study of pathways of pyruvate metabolism in lactating mammary. Biochemic. J. **47**, Proc., XLIX—L (1950). — Thimann, K. V., and Y. H. Edmondson: The biogenesis of the anthocyanins. I. General nutritional conditions leading to anthocyanin formation. Arch. of Biochem. **22**, 33—53 (1949). — Thimann, K. V., Y. H. Edmondson and B. S. Radner: The biogenesis of the anthocyanins. III. The rôle of sugars in anthocyanin formation. Arch. of Biochem. **34**, 305—323 (1951). — Uota, M.: Temperature studies on the development of anthocyanin in Mc Intosh apples. Proc. Amer. Soc. Horticult. Sci. **59**, 231—237 (1952). — Wolf, J.: Über den Gasstoffwechsel reifender Vogelbeeren. Planta (Berl.) **28**, 716—720 (1938).

Frank Eberhardt, Botanisches Institut Tübingen.

Planta, Bd. 43, S. 288—314 (1954).

Aus dem Botanischen und Physiologisch-Chemischen Institut
der Justus Liebig-Hochschule, Gießen.

ÜBER DIE PAPIERCHROMATOGRAPHISCHE UND PAPIERELEKTROPHORETISCHE TRENNUNG VON INDOLDERIVATEN.

Von

ADOLF FISCHER.

Mit 9 Textabbildungen.

(Eingegangen am 29. Oktober 1953.)

In einer früheren Arbeit hat LINSER (1951) eingehend auf die Vielzahl der Stoffe hingewiesen, die in den höheren Pflanzen eine Wuchs- bzw. Hemmwirkung auslösen können. Er betont insbesondere, daß der „Wuchsstoffwert", den man durch einen biologischen Test eines Extraktes an einer bestimmten Testpflanze (z. B. *Avena*) erhält, nicht einfach als Maßstab für den „Wuchsstoffgehalt" einer Pflanze betrachtet werden kann, sondern höchstens als der „aktuelle Wirkungswert" des betreffenden Gemisches. Es ist dringend notwendig, diese Stoffgemische, bevor sie in einem physiologischen Test an einer anderen Pflanze (z. B. Kressewurzel, *Avena*) auf ihre Wirkung geprüft werden, weitgehend in ihre einzelnen stofflichen Komponenten aufzugliedern. Bisher angewandte Trennungsmethoden (Ausschüttelungs-, Diffusions-, Sublimationsverfahren oder Trennung durch Kochen im sauren bzw. alkalischen Milieu) führten zu keinen befriedigenden Ergebnissen. Daher bedeutete das Trennungsverfahren mit Hilfe der chromatographischen Adsorptionsanalyse, das von LINSER zum erstenmal zur Trennung von pflanzlichen Wuchsstoffen angewendet wurde, einen bedeutenden Fortschritt. Es war erstmals möglich, Indolderivate abzutrennen und mit einer bestimmten Farbreaktion nachzuweisen. Weiterhin erlaubte diese Methode eine wesentlich günstigere Aufgliederung des Pflanzenextraktes als die bisher gebräuchlichen Verfahren (vgl. z. B. BOYSEN-JENSEN 1941).

Eine Verbesserung gegenüber früheren Methoden stellt auch das von POHL (1950) angewandte elektrodialytische Verfahren zur schonenden Gewinnung und Isolierung von Hemmstoffen aus Pflanzenmaterial dar. Obwohl diese Verfahren eine erheblich günstigere Aufgliederung des Pflanzenmaterials gestatteten, war es mit ihrer Hilfe doch noch nicht möglich, einen einzelnen Stoff als solchen zu charakterisieren. Es war naheliegend, ausgehend von der LINSERschen Methode mit Hilfe der Papierchromatographie und Papierelektrophorese eine weitere Trennung der verschiedenen Wuchs- und Hemmstoffe zu versuchen. Vor allen Dingen erschien es erstrebenswert, nach Möglichkeit verschiedene Ver-

fahren kombiniert anzuwenden und das in der Pflanze vorliegende Stoffgemisch in mehreren aufeinanderfolgenden Arbeitsgängen in seine einzelnen Komponenten zu zerlegen.

Die folgenden Ausführungen sind in 3 Abschnitten unterteilt, und zwar behandelt der 1. Abschnitt ausschließlich die verschiedenen Methoden, während im 2. Abschnitt erste Versuche zur Anwendung derselben auf eine Reihe höherer Pflanzen beschrieben werden. Im 3. Abschnitt wird über die Photolyse der β-Indolylessigsäure berichtet.

Während der Ausführung der Versuche erschienen verschiedene Arbeiten (PADECO 1950, JERCHEL und MÜLLER 1951, LUCKWILL 1952, BENNET-CLARK, TAMBIAH und KEFFORD 1952), welche ebenfalls zeigen, daß die papierchromatographische Wuchs- und Hemmstofftrennung, im Vergleich zu früheren Verfahren, eine günstigere Aufgliederung des Pflanzenmaterials gestattet.

Deshalb wurde über einen Teil der in den Abschnitten I—III dargestellten Untersuchungen bereits an anderer Stelle in Form von vorläufigen Mitteilungen kurz berichtet (D. v. DENFFER, M. BEHRENS und A. FISCHER 1952a, A. FISCHER und M. BEHRENS 1952a, D. v. DENFFER, M. BEHRENS und A. FISCHER 1952b, A. FISCHER und M. BEHRENS 1952b, D. v. DENFFER und A. FISCHER 1952, M. BEHRENS und A. FISCHER 1954).

I.

a) Qualitative Papierchromatographie.

Rein empirisch wurden die verschiedenen Lösungsmittel ausprobiert und an Hand der Schärfe der Zonenausbildung im UV-Licht und der Wanderung synthetischer Indolderivate auf ihre Brauchbarkeit beurteilt. Als in diesem Sinne geeignet erwiesen sich folgende Lösungsmittelgemische: Butanol—NH_3—Wasser (4:1:5), Butanol—Eisessig—Wasser (4:1:5), wassergesättigtes Phenol. Von diesen Lösungsmitteln ist das Phenolgemisch für Wuchsstofftrennungen nicht anwendbar, da es im biologischen Test toxisch wirkt. Die beste Zonenbildung ergibt ein Isopropanolgemisch [Isopropanol—Ammoniak—Wasser (80:5:15)]. In erster Linie wurde mit der aufsteigenden Methode gearbeitet. Die Zonen waren in diesem Falle besonders bei Verwendung von Pflanzenextrakten wesentlich schärfer als bei der absteigenden Methode.

Die angewandten synthetischen Indolderivate ergaben mit Isopropanol als Lösungsmittel folgende R_f-Werte:

Tryptophan 0,41—0,43,
Indolylessigsäure (IES) 0,52—0,55,
Indolacetamid 0,79—0,82,
Indolacetonitril (IAN) 0,83—0,86,
Indolaldehyd 0,81—0,84.

Indol und Skatol weisen bei der eindimensionalen Trennung mit Isopropanol annähernd denselben R_f-Wert auf, wie der Indolaldehyd (IA). Beim zweidimensionalen Chromatogramm mit Isopropanol—NH_3—Wasser und Butanol—Eisessig—Wasser war das Ergebnis etwas günstiger.

Hier lagen diese Stoffe an der Lösungsmittelfront besser getrennt in der Reihenfolge Indolaldehyd, Indol, Skatol dicht hintereinander. Für Stoffe mit einem R_f-Wert, der kleiner als 0,70 ist, bewährt sich eine vorherige Pufferung des Streifens mit Citratpuffer p_H 2,4. Für die IES verschiebt sich der R_f-Wert in diesem Falle gegen 0,77, für Tryptophan gegen 0,52. Als Filterpapier hat sich Schleicher & Schüll 2043b am besten bewährt.

Die Indolderivate wurden mit Hilfe der Nitrit- (vgl. MITCHELL und BRUNSTETTER 1939) bzw. Perchlorsäurereaktion (vgl. GORDON und WEBER 1951) identifiziert. Bei der ersteren wurde der Streifen mit einer 0,5%igen wäßrigen oder einer 1%igen alkoholischen $NaNO_2$-Lösung besprüht und nach Trocknung mit HCl-Dämpfen behandelt. Das Perchlorsäurereagens bestand aus 50 Teilen 5%iger $HClO_4$ und 1 Teil 0,05 mol $FeCl_3$.

Bei dem Chromatographieren von Pflanzenmaterial erwies sich eine vorhergehende Reinigung des Extraktes als unbedingt notwendig. In erster Linie wirken Pflanzenfarbstoffe beim Entwickeln der Chromatogramme sehr störend. Weiterhin muß der nachzuweisende Stoff mengenmäßig mindestens $^1/_{200}$ des zu trennenden Gemisches betragen, da ihn sonst andere Stoffe, welche sich im Übergewicht befinden, in seiner Wanderung auf dem Papier beeinflussen.

Folgender Versuch zeigt dies sehr deutlich: Wenige Tropfen einer IES-Lösung (10^{-3} g/cm³) wurden einem alkoholischen Extrakt aus Weizen-, Hafer-, Sonnenblumen- und Weißkohlsamen zugegeben. Darauf wurde dieser Extrakt im Vakuum eingeengt und papierchromatographisch untersucht. Im Vergleich zu einem Kontrollstreifen mit synthetischer IES-Lösung erfuhr die IES-Zone auf dem Extraktstreifen oft eine Verschiebung. Nun ergab sich die Frage, auf welche Weise der Extrakt am besten vorzureinigen sei. Durch den soeben angeführten Versuch war bewiesen, daß eine alkoholische Extraktion zu viele Begleitstoffe aufnimmt, welche die Trennung der Indolderivate beeinflussen und somit kein absolutes Chromatogramm ergaben. Der alkoholische Extrakt stellt gegenüber dem wäßrigen bereits eine erhebliche Verbesserung dar. Ein weiterer Schritt zur Trennung bedeutet die chromatographische Adsorptionsmethode nach LINSER. Der große Vorteil dieser Methode besteht darin, daß hierbei ein Teil der pflanzeneigenen Farbstoffe abgetrennt wird, was zur Herstellung eines einwandfreien Chromatogramms unbedingt erforderlich ist. Durch Ausschütteln des aus der Al_2O_3-Säule erhaltenen wäßrigen Eluates mit Äther wurde eine weitere Fraktionierung erreicht. Doch reichte auch diese Vorreinigung oft noch nicht aus und ergab noch eine geringfügige Verschiebung der R_f-Werte. Auch durch Aufnehmen des Ätherrückstandes mit Alkohol und anschließende nochmalige Adsorption an Al_2O_3 konnte keine Verbesserung erzielt werden. Das ist

erklärlich, da ja Stoffe, die einmal aus alkoholischer Lösung an Al_2O_3 adsorbiert wurden, bei nochmaliger Adsorption im gleichen Verhältnis adsorbiert werden. Auch die Variation mit anderen Lösungs- und Adsorptionsmitteln brachte kein restlos befriedigendes Ergebnis. Am geeignetsten erwies sich nach verschiedenen Versuchen die folgende Methode:

Eine größere Ausgangsmenge von Pflanzenmaterial wurde nach der Linserschen Methode über Al_2O_3 aufgearbeitet. Adsorbat und Filtrat wurden alsdann auf präparativen Filterpapierbogen (S & S 2071 und 2230) chromatographiert. Aus dem Bogen wurde ein schmaler Streifen herausgeschnitten und mit der Nitrit- bzw. Perchlorsäurereaktion entwickelt. Im Vergleich zu diesen entwickelten Streifen wurden auf den Bogen die positiven Reaktionszonen waagrecht herausgeschnitten, diese mit Alkohol extrahiert und nochmals auf einfachen Filterpapierstreifen chromatographiert.

b) Qualitative Papierelektrophorese.

In der letzten Zeit gewannen Trennungen von Eiweißkörpern mit dem sehr einfach zu handhabenden Elphor-H-Gerät nach W. Grassmann und

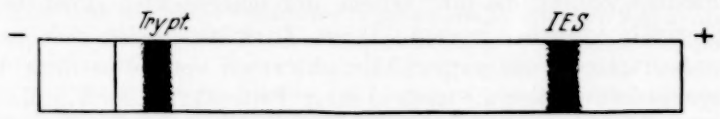


Abb. 1. Elektrophoretische Trennung von IES und Tryptophan.

K. Hannig immer mehr an Bedeutung. Da das Gerät auch für ionophoretische Trennungen geeignet ist, lag es nahe, diese neue Methode auch zur Trennung von Indolderivaten heranzuziehen und mit der vorher beschriebenen Methode zu kombinieren. An Filterpapieren haben sich wiederum S & S 2043 b und Whatman I gut bewährt.

Zunächst wurde die Trennung von synthetischem Tryptophan und IES bei Verwendung verschiedener Puffergemische versucht. Beide Lösungen mit einer Konzentration von je 10^{-3} g/cm³ wurden zu einem Gemisch zusammengegeben und hiervon 0,01 cm³ mit einer Capillarpipette als feiner Querstrich auf einem etwa 4 cm breiten und 30 cm langen Papierstreifen aufgetragen. Die beiden Enden des mit Pufferlösung angefeuchteten Streifens tauchten in die mit der gleichen Pufferlösung gefüllten Vorkammern der Elektrodenräume ein. An die Elphorkammer wurde während 8 Std eine Spannung von 110 V angelegt. Nach dieser Zeit wurde der Streifen aus der Kammer herausgenommen und im Dunkeln bei Zimmertemperatur getrocknet. Die Entwicklung des Streifens wurde wie oben angegeben mit dem $NaNO_2$- oder $HClO_4$-Reagens vorgenommen. Die IES (rote Zone Abb. 1) wanderte deutlich nach der Anode, während sich Tryptophan (gelbe Zone) nur wenig von

der Auftragsstelle fortbewegte (Phosphatpuffer nach SÖRENSEN p_H 7). Die Trennung war sehr deutlich und zeigte eine klare, vollkommen gerade Zonenausbildung.

Bei der Trennung von Pflanzenextrakten ist, genau wie bei der Papierchromatographie, eine gründliche Vorreinigung erforderlich. Sollen größere Extraktmengen verarbeitet werden, so ist es zweckmäßig, den Streifen erst nach dem Auftragen des Gemisches mit der Pufferlösung zu besprühen. Wird nämlich das Substanzgemisch auf den schon vorher angefeuchteten Streifen aufgetragen, so pflegt es ziemlich weit auseinander zu diffundieren und kann infolgedessen nicht durch mehrmaliges Auftragen angereichert werden. Genau wie bei der Papierchromatographie ist es auch in diesem Falle vorteilhaft, die angereicherten positiven Reaktionszonen zu extrahieren und auf einem neuen Streifen nochmals zu trennen.

c) Präparative Papierchromatographie.

Nachdem die Trennung mehrerer Indolderivate qualitativ gelungen war, zeigte die Aufgliederung von Pflanzenextrakten auf dem Papier verschiedene Zonen, die mit keinem der untersuchten synthetischen Indolderivate identisch waren. Diese Zonen verhielten sich papierchromatographisch und papierelektrophoretisch sowohl in ihrer Wanderungsgeschwindigkeit als auch in ihrer Farbreaktion im Vergleich zu den synthetischen Stoffen verschieden. Um diese neugefundenen Zonen anzureichern, mußten die Versuche in den präparativen Maßstab übertragen werden. Die in der Literatur angegebenen Methoden erwiesen sich teils wegen ihrer mangelnden Übersichtlichkeit teils wegen ihrer Kompliziertheit als ungeeignet. Zunächst wurde die „Chromatopack"-Methode nach W. L. PORTER (1951) ausprobiert, da sie relativ einfach und ohne besonderen Aufwand in jedem Laboratorium durchführbar ist. Sie besteht darin, daß ein Pack von etwa 50 Filterpapierstreifen mit 2 Stahlplatten zusammengepreßt wird. Bei Anwendung breiterer Streifen und besonders ganzer Bogen traten bei diesen Versuchen besonders an den Preßstellen der einzelnen Schrauben unklare Trennungen auf. Es galt daher die scharfe Zonentrennung eines einzelnen Filterpapierbogens auch innerhalb eines Packs von mehreren Bogen zu gewährleisten. Eine einfache Lösung wurde gefunden indem zwischen die einzelnen Papierbogen am oberen und unteren Ende je ein dünner Kunststoffstreifen eingeführt wurde. Auf diese Weise kann in einem Arbeitsgang eine chromatographische Trennung auf 50—100 Papierbogen erreicht werden, die an Exaktheit der Zonenausbildung eines einzelnen Chromatogramms in nichts nachsteht. Der Vorteil dieses Verfahrens liegt darin, daß die auf einzelnen Bogen erzielten Ergebnisse mit Sicherheit und in einfacher Weise in den präparativen Maßstab übertragen werden

können. Der Zusammenbau bietet keine Schwierigkeiten und außerdem ist der Raumbedarf gering. Dieses Verfahren läßt sich sowohl bei der aufsteigenden als auch bei der absteigenden Chromatographie durchführen. Für die präparative Trennung haben sich die präparativen Filterpapiere S & S 2071 und 2230 gut bewährt. Auch der 6 mm dicke Karton von derselben Firma ergab eine exakte Zonentrennung. Um eine gleichmäßige Durchdringung der Kartons mit dem Substanzgemisch zu gewährleisten, wurden diese längs der Startlinie in Millimeterabständen mit einer Nadel perforiert. Auf diese Weise erhält man auch auf den dicken Kartons vollkommen gleichmäßige Banden, was bei der Trennung von eng nebeneinanderliegenden Zonen besonders wichtig ist.

Praktische Durchführung.

Das Substanzgemisch wird etwa 8 cm vom unteren Rand entfernt in einer querverlaufenden Linie auf die Schmalseite des 30 × 55 cm großen Papierbogens in der üblichen Weise mit einer Capillarpipette aufgetragen. Das Auftragen wird nach kurzem Trocknen auf beiden Papierbogenseiten noch mehrmals wiederholt. Die so vorbereiteten Bogen werden übereinandergeschichtet, wobei zwischen die einzelnen Bogen am oberen und unteren Ende jeweils ein Kunststoffstreifen (2 mm dick, 2 cm breit und einige Zentimeter länger als die betreffenden Bogen) eingelegt wird. An den überragenden Enden werden die Kunststoffstreifen mit Gummiringen zusammengepreßt. Nach Überprüfen und Korrigieren der Abstände der einzelnen Bogen wird der Pack in den Glastrog mit Lösungsmittel eingebracht. Die einzelnen Packs werden hintereinander mit ihren überstehenden Kunststoffstreifenenden auf 2 querstehenden Glasstäben, die mit je etwa 3 cm langen Druckschlauchenden in dem Glastrog befestigt waren, aufgehängt. Durch die Kunststoffstreifen am unteren Ende des Packs sind diese beschwert und hängen straff in das betreffende Lösungsmittelgemisch. Nach etwa 30—36 Std werden die Packs herausgenommen und getrocknet. Die Identifizierung der Zonen erfolgte mit den Indolreagentien und der Analysenquarzlampe. Nach dem Chromatographieren wird ein 2 cm breiter Streifen von der ganzen Länge des Bogens herausgeschnitten und mit dem Indolreagens entwickelt. Das Messen der Extinktionen mit einer Photozelle (z. B. Elphor-Auswertgerät) hat sich hierbei gut bewährt, da die erhaltenen Kurven eine Aussage über den Erfolg der Fraktionierung gestatten. Im Vergleich zu diesen gefärbten Streifen werden die einzelnen Zonen auf den Bogen der Packs in Form waagrechter Streifen herausgeschnitten. Diese werden im Starmix zerkleinert und anschließend im Soxhlet-Apparat mit Äther extrahiert. Der 1. Bogen eines Packs enthält ein Mischchromatogramm, und zwar werden hierzu, etwa 5 cm vom rechten Rand entfernt, auf das aufgetragene Substanzgemisch mehrere synthetische Indolderivate punktförmig aufgetragen und die Stelle mit einem Bleistift markiert.

d) Präparative Papierelektrophorese.

Die gleiche präparative Methode läßt sich auch auf die Papierelektrophorese übertragen. Ein erster Versuch, bei dem mehrere Streifen nach Auftragen des Substanzgemisches und nach Besprühen mit Pufferlösung unmittelbar aufeinandergelegt und gemeinsam in der Elphorkammer behandelt wurden, brachte allerdings kein befriedigendes Ergebnis. Die

Substanzen diffundierten vollkommen auseinander, so daß es unmöglich war, die einzelnen Zonen für die Extraktion herauszuschneiden. Auch die Isolierung der einzelnen Streifen durch Dazwischenlegen von Zellophanstreifen brachte kein besseres Ergebnis. Diese Versuche beweisen, daß bei einer Vervielfachung der Chromatogramme nur dann sichere und einwandfreie Ergebnisse erzielt werden können, wenn sich die einzelnen Papierstreifen nirgendwo gegenseitig berühren. Wie weitere Versuche ergaben, wies die Trennung der einzelnen Zonen auf einem Streifen von der ganzen Breite einer Elphorkammer genau dieselbe Trennschärfe auf

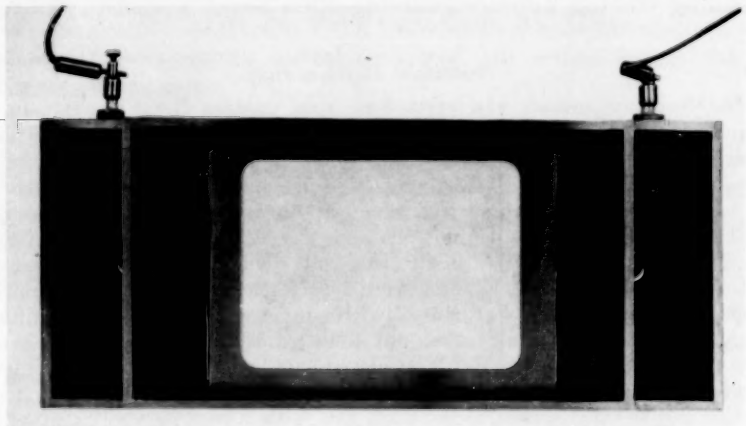


Abb. 2. Präparative Elektrophoresekammer mit Kunststoffrahmen.

wie auf den üblichen 4 cm breiten Papierstreifen. Ähnlich wie bei der Papierchromatographie wurde daher die Isolierung der Streifen in einfacher Weise gelöst, indem 2—3 mm starke Kunststoffrahmen dazwischengelegt wurden.

Zur präparativen Trennung von Stoffgemischen ließ sich folgende Methode mit Erfolg anwenden: Das Substanzgemisch wird in der Mitte der Streifen aufgetragen, nach elektrophoretischer Entwicklung wird zunächst eine Fraktionierung in einen neutralen und je einen kathodisch- und einen anodisch wandernden Teil erreicht. Nach getrennter Extraktion und Einengung werden alsdann die einzelnen Fraktionen nochmals an der Anoden- bzw. Kathodenseite aufgetragen. Durch die Anwendung neutraler, basischer oder saurer Puffergemische läßt sich auf diese Weise eine weitgehende Trennung der Stoffgemische erreichen.

Der erhöhte Strom- und Pufferverbrauch muß bei der Vielfachmethode, besonders bei Verwendung von präparativen Streifen (S & S 2071 oder 2230) berücksichtigt werden. Es empfiehlt sich daher nach etwa 6 Std die Pufferlösung aus den Elphorkammern herauszusaugen und durch neue zu ersetzen. Bei der Verwendung von nur 2—3 Streifen genügt es, den Pack nach der gleichen Zeit mit den Rahmen herauszunehmen und um 180° in bezug auf die Längsrichtung zu drehen. Gleichzeitig werden hierbei die Elektroden umgepolt.

Als sehr wünschenswert erschien es weiterhin bei dieser neu entwickelten „Isolierpack"-Methode mit wesentlich breiteren und längeren Streifen zu arbeiten. Die Voraussetzung hierzu war durch das Dazwischenlegen der Kunststoffrahmen gegeben, da diese ein Durchhängen der Streifen verhindern. Es wurden neue Kammern hergestellt, die im Prinzip den üblichen Elphorkammern glichen, jedoch 20 cm breit, 50 cm lang und 15 cm hoch waren (Abb. 2).

Die Elektroden wurden genau wie bei den Elphorkammern von GRASSMANN und HANNIG in dem bewährten Labyrinthsystem angebracht, jedoch mit dem Unterschied, daß sie nicht aus Glas, sondern aus Plexiglas angefertigt wurden. Sie wurden in der Kammer mit Hilfe eines in der Mitte durchbohrten weichen Gummistopfens befestigt (Abb. 3).

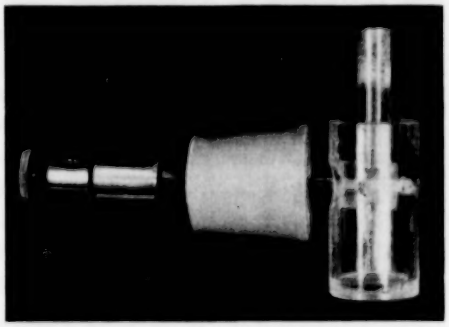


Abb. 3. Elektrode mit Plexiglasgehäuse und Gummistopfen.

Diese Verbesserung brachte verschiedene Vorteile:

1. kann die Elektrode in einfacher Weise durch einen leichten Druck auf den Gummistopfen von der Kammer gelöst und diese somit gründlich gereinigt werden, ohne daß hierbei das Glasgehäuse der Elektrode beschädigt wird;

2. wird durch den dichten Verschluß mittels des Gummistopfens das Auslaufen der Pufferlösung während der Elektrophorese verhindert;

3. erwiesen sich die aus Plexiglas hergestellten Labyrinthsysteme als besonders stabil.

Die 2—3 mm dicken Rahmen entsprechen in ihrer Größe derjenigen der Kammer.

Die Breite des Randes beträgt 2—$2^1/_2$ cm. Das Substanzgemisch wird vorher in einer querverlaufenden Linie unter Berücksichtigung der Breite des Randes auf dem trockenen Filtrierpapierstreifen mit einer Capillarpipette aufgetragen. Anschließend wird der Streifen mit Pufferlösung besprüht und in die Kammer auf einen Kunststoffrahmen aufgelegt. Dieses Vorgehen empfiehlt sich, weil man das Substanzgemisch auf einen trockenen Streifen bequem in exakter Weise auftragen kann und der Zusammenbau der Isolierpacks dadurch erleichtert wird. Bei dem Auflegen auf den Rahmen saugt sich der Streifen mit seinen Rändern sofort fest und liegt vollkommen eben. Nach Herausnehmen und Trocknen der Streifen erfolgt die Identifizierung und Extraktion der einzelnen Zonen genau wie bei der Papierchromatographie.

e) Präparative Vorreinigung und Trennung des Extraktes mit Hilfe der Cellulosesäule.

Zum Vorreinigen des Pflanzenextraktes wurde außerdem das chromatographische Trennverfahren an der Cellulosesäule angewendet (vgl. z. B. HOUGH, JONES und WADMAN 1948). Dieses Verfahren gestattet die Verarbeitung einer großen Menge Pflanzenmaterials in einem Arbeitsgang. Der Pflanzenextrakt stellt im eingeengten Zustand eine dicke, klebrige Masse dar. Bei Versuchen mit der absteigenden Methode an der Cellulosesäule wurden keine exakten Zonen erhalten. Es wurde deshalb die aufsteigende Methode, welche sich bei der qualitativen Papierchromatographie gut bewährte, auch für ein Trennverfahren an der Cellulosesäule herangezogen.

Zur Herstellung der Cellulosesäule wurde ein Glasrohr (15 cm ⌀, 40 cm Länge), das unten mit einem Drahtnetz und einer etwa 5 cm dicken Schicht Watte verschlossen war, in eine Rüttelmaschine eingespannt. Unter ständigem Rütteln wurde dann die Cellulose mit einem Glasstab, an dessen unterem Ende ein Gummistopfen befestigt war, gleichmäßig in das Rohr hineingepreßt. Um die Säule noch homogener und kompakter zu gestalten, wurde langsam Petroläther oder Chloroform hindurchgesaugt. Anschließend wurde die Säule vollkommen trockengesaugt. Der auf etwa $^1/_{10}$ eingeengte wäßrige Extrakt wurde mit Cellulosepulver gründlich durchmischt und das Cellulosegemisch nach Trocknung am unteren Ende der Säule gleichmäßig eingepreßt, nachdem vorher das Drahtnetz entfernt und die Watte aus dem Glasrohr herausgenommen war. Der entstandene freie Raum wurde mit Cellulosepulver und abschließend mit einer dünnen Schicht Watte ausgefüllt. Nach Einbringen der Säule in einen oben verschließbaren Glaszylinder wurde mit dem Isopropanollösungsmittel chromatographiert. Das Lösungsmittel wanderte in der Säule gleichmäßig nach oben, und es zeigten sich bei dem langsamen Hochsteigen mehrere scharf abgegrenzte Extraktzonen. Anschließend wurde das Glasrohr aus dem Zylinder herausgenommen und die Cellulosesäule, nachdem diese angetrocknet war, herausgepreßt. Zur Identifizierung der einzelnen Indolderivate war die allgemein übliche Pinselmethode nicht anwendbar, da das Indolreagens stark säurehaltig ist. Aus diesem Grunde wurde die Cellulosesäule mit dem betreffenden Lösungsmittel der Länge nach an einer Seite besprüht und die Säule mit der angefeuchteten Seite solange auf einen Papierstreifen aufgepreßt, bis dieser gleichmäßig durchfeuchtet war. Sodann wurde der Streifen mit dem Indolreagens entwickelt und die Zonen an der Cellulosesäule abgezeichnet. Nach Zerlegen der Säule in die entsprechenden Abschnitte wurden diese im Soxhlet-Apparat mit Äther extrahiert. Die Extraktion der einzelnen Zonen mit einem Fraktionsschneider hat sich ebenfalls gut bewährt.

II.

1. Trennung von Indolderivaten aus Pflanzenextrakten.

In seiner Arbeit über die chromatographische Trennung pflanzlicher Wuchsstoffe berichtete LINSER über die Adsorption der β-Indolylessigsäure (IES) aus einer alkoholischen Lösung an Aluminiumoxyd. Die IES ließ sich hierbei nach Zusatz zu einem Rosenkohlextrakt im Adsorbat wiederfinden und von anderen Wuchsstoffen abtrennen. Reine Rosenkohlextrakte ergaben bei gleichartiger Chromatographie zweierlei Wuchsstoff-Fraktionen: eine an Aluminiumoxyd adsorbierbare und eine die Säule ohne Adsorption durchlaufende. Von diesen ergab der an Al_2O_3 adsorbierbare Anteil einen positiven Ausfall der Nitritreaktion. Er wird daher von LINSER — wenigstens zum Teil — als Heteroauxin betrachtet. Seine Modellversuche ergaben die restlose Adsorption der IES aus einer alkoholischen Lösung in der obersten Schicht der Aluminiumoxydsäule. Dabei zeigte das Filtrat aus einer etwa 100 mm langen Säule von 7 mm Querschnitt, durch welche 1 mg IES in 10 cm³ Alkohol hindurchgelaufen war, keine Farbreaktion mehr, und war im *Avena*test unwirksam. Diese Befunde LINSERS konnten von mir bestätigt werden.

100 g Rosenkohl wurden im Starmix mit der dreifachen Menge Alkohol versetzt und 1 Std lang mit kurzen Unterbrechungen zerkleinert. Nach Abnutschen und Nachwaschen mit Alkohol wurde das alkoholische Filtrat in drei gleiche Portionen geteilt und durch je eine Säule (3 cm ⌀ und 10 cm Länge) von standardisiertem Aluminiumoxyd nach BROCKMANN (Fa. Merck, Darmstadt) gegeben. Die Säulen wurden mit n/10 Natronlauge eluiert. Beim Chromatographieren über Al_2O_3 waren die grünen Pflanzenfarbstoffe nahezu quantitativ in das Filtrat übergegangen, während das wäßrige NaOH-Eluat eine rötlich-gelbe Farbe zeigte. Die Eluate wurden erschöpfend mit Äther alkalisch und sauer ausgeschüttelt. Der Rückstand nach Verdampfen des Äthers war schwach bräunlich gefärbt. Eine geringe Menge dieses Rückstandes wurde in einem Reagensglas mit wenigen Tropfen des Nitritreagens versetzt: Es zeigte sich sofort eine deutliche Rotfärbung. Auch LINSER erhielt bei Verarbeitung einer größeren Menge Rosenkohlextraktes einen positiven Ausfall der Nitritreaktion und schloß hieraus, daß es sich um „Heteroauxine vom Indoltypus" handeln könne. Doch konnte diese Frage, wie LINSER angibt, erst dann endgültig beantwortet werden, wenn eine weitere Auftrennung des Adsorbats in seine einzelnen Komponenten erfolgt sein würde. Die von mir versuchte Auftrennung mit verschiedenen Lösungsmitteln und anderen Adsorbentien führte nicht zum Ziel. Hingegen gelang eine Zerlegung des Gemisches mit Hilfe der papierchromatographischen Methode.

a) Papierchromatographie. Zunächst wurde in Modellversuchen die Trennung synthetischer Indolderivate (s. S. 289) probiert. Der mit wenig Alkohol aufgenommene Ätherrückstand des NaOH-Eluatrestes aus Rosenkohlextrakt wurde auf einem Papierstreifen aufgetragen und im Dunkeln mit dem Isopropanollösungsmittel aufsteigend chromatographiert. Gleichzeitig ließ ich auf einem Parallelstreifen IES und

Tryptophan mitlaufen. Nach Entwicklung der Chromatogramme und Trocknung im Dunkeln wurden die Streifen mit der Analysenquarzlampe untersucht. Hierbei zeigten sich auf dem Pflanzenextraktstreifen 11 verschiedene Fluorescenzzonen. Der Streifen mit den synthetischen Indolderivaten hingegen wies keine Fluorescenzzonen auf. Die der IES entsprechende Zone des Pflanzenextraktstreifens zeigte nur eine sehr schwache Nitrit- und Perchlorsäurereaktion (Rotfärbung; die Perchlorsäurereaktion war etwas deutlicher). Die Zimtaldehydreaktion nach TH. WIELAND brachte kein besseres Ergebnis. Unterhalb der IES-Zone fand sich mit der Nitrit- und Perchlorsäurereaktion eine andere deutlich abgesetzte rote Zone. Im Gegensatz zur beständigen IES-Zone verblaßte diese Zone rasch. Im UV-Licht zeigte sie blaue Fluorescenz.

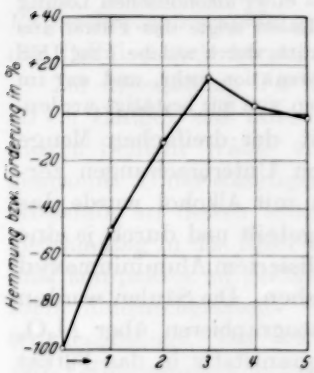


Abb. 4. Die Zone „B" im Kressewurzeltest nach MOEWUS untersucht.

Aus diesen Versuchen geht hervor, daß die von LINSER nachgewiesene Rotfärbung der an Aluminiumoxyd adsorbierten Fraktion aus dem Rosenkohlextrakt nur zu einem geringen Teil auf die Anwesenheit pflanzeneigener IES zurückzuführen ist. Weitaus der größte Anteil dieser Rotfärbung ist vielmehr auf eine andere Substanz (Zone „B") zurückzuführen, die mit IES nicht identisch ist. Im Kressewurzeltest nach MOEWUS und im *Avena*-Zylindertest zeigt sie Wuchsstoffwirkung (vgl. Abb. 4).

b) Papierelektrophorese. Neben der PC-Methode wurde die Papierelektrophorese zur weiteren Aufgliederung des Al_2O_3-Adsorbates aus Rosenkohlextrakt herangezogen. Die Elektrophorese erfolgte wie in I b, S. 291, beschrieben, im Phosphatpuffer nach SÖRENSEN (p_H 7). Die elektrophoretische Aufgliederung des Al_2O_3-Adsorbates des Rosenkohlextraktes konnte erst nach restloser Entfernung der Essigsäure, mit der beim Ätherausschütteln angesäuert war, erfolgen. Die Entfernung derselben gelingt leicht in einem Exsikkator mit fester KOH im Vakuum. Im UV-Licht zeigte das elektrophoretisch fraktionierte Al_2O_3-Adsorbat auf dem Papier eine deutliche Aufgliederung in verschiedene Zonen. Die mit der PC-Methode neu aufgefundene Zone „B" konnte auch hier mit der Nitrit- und Perchlorsäurereaktion eindeutig wiedergefunden werden. Sie wandert nur etwa halb so weit wie die IES zur Anode.

Dieselbe Zone wurde auch im Blattextrakt aus Grünkohl und im Maissamenextrakt gefunden. In dem Blattextrakt aus anderen *Brassica*-Arten (Weißkohl, Wirsingkohl, Blumenkohl, Kohlrabi) ließ sie sich dagegen nicht nachweisen. Sie fehlte auch in den Blattextrakten aus

Cichorium Endivia, *Spinacia oleracea* und *Raphanus sativus*, sowie im Extrakt aus den Karyopsen des Weizens und Roggens[1].

c) Nachweis des Indolacetonitrils. Nun wurde untersucht, ob der Stoff der Zone „B" mit dem von JONES, HENBEST, SMITH und BENTLEY aus Rosenkohl isolierten β-Indolacetonitril (IAN) identisch sei. Durch die Freundlichkeit von Herrn Prof. Dr. E. R. H. JONES, Dr. HENBEST, Dr. SMITH und Dr. BENTLEY, Manchester, denen für ihr Entgegenkommen an dieser Stelle nochmals verbindlichst gedankt sei, erhielten wir synthetisches IAN und konnten sein chromatographisches und elektrophoretisches Verhalten mit der Zone „B" vergleichen: Die IAN-Zone ergibt nach Besprühen mit $NaNO_2$ und Einbringen in HCl-Dämpfe zunächst eine schwach grünliche Färbung, die alsbald über dunkelblau nach rotbraun umschlägt und in diesem Zustand ziemlich beständig ist. Diese Färbung mit der Nitritreaktion scheint für das IAN spezifisch zu sein, da dieser charakteristische Farbton bei keinem der anderen bisher geprüften Indolderivate beobachtet werden konnte.

Papierelektrophoretisch wandert das IAN nur wenig zur Anode. Unter gleichen Bedingungen läuft die Zone „B" etwa viermal so weit. Papierchromatographisch zeigt das IAN einen R_f-Wert von 0,83—0,86, die Zone „B" hingegen 0,42—0,45. Die Substanz der Zone „B" unterscheidet sich also papierchromatographisch, papierelektrophoretisch und in der Reaktionsfärbung in charakteristischer Weise von dem IAN und kann daher mit diesem nicht identisch sein. Trotz vieler Versuche ist es bisher noch nicht gelungen, den Stoff der Zone „B" chemisch aufzuklären.

Nachdem feststand, daß die Zone „B" nicht mit der IAN-Zone identisch war, erhob sich die Frage, ob das IAN mit Hilfe der PC- und PE-Methode in Kohlextrakten nachzuweisen sei. Zu diesen Versuchen wurden Extrakte aus jungen Kohlpflanzen (Rosenkohl, Weißkohl, Grünkohl, Blumenkohl und Wirsingkohl) verwandt. Der PC- und PE-Nachweis des IAN stieß zunächst auf unerwartete Schwierigkeiten. Wie üblich wurden die Pflanzen mit Alkohol extrahiert. Alsdann wurde der alkoholische Extrakt über Al_2O_3 geleitet und das Adsorbat nach NaOH-Eluation mit Äther mehrmals sauer und alkalisch ausgeschüttelt. Nach PC- und PE-Untersuchung konnten zwar mehrere Reaktionszonen besonders im Grünkohlextrakt nachgewiesen werden, doch war keine von ihnen mit der IAN-Zone identisch.

In weiteren Versuchen wurden zur Kontrolle die alkoholischen Kohlextrakte in zwei gleich große Portionen geteilt, deren eine mit 10 cm³

[1] Die Zone „*B*" konnte außerdem noch in einem Ätherextrakt aus altem englischen Handelspenicillin neben IES und zwei weiteren Nitritzonen nachgewiesen werden. In weiter gereinigten Penicillinsalzen, die sich zur Zeit im Handel befinden, fiel die Nitritreaktion negativ aus.

einer IAN-Lösung 10^{-3} g/cm³ versetzt wurde. Beide Lösungen wurden daraufhin, wie oben beschrieben, weiterbehandelt. Auch diesmal war im Al_2O_3-Adsorbat kein IAN nachzuweisen. Nun wurde das durch die Al_2O_3-Säule gelaufene Filtrat zur Trockene eingedampft. Der im Exsikkator einer weiteren Trocknung unterworfene Rückstand wurde alsdann im Starmix statt mit Alkohol mit CCl_4 versetzt und fünfmal in 15 min-Abständen gründlich durchmischt. Die CCl_4-Lösung wurde nunmehr über Al_2O_3 geleitet und die Säule mit gleichen Teilen Lauge und Alkohol eluiert. Nach Untersuchung des Eluats mit der PC- und PE-Methode war das IAN in beiden Portionen (mit und ohne Zusatz von synthetischem IAN) mit der Nitritreaktion deutlich zu erkennen. Bei Verwendung von Petroläther an Stelle des Tetrachlorkohlenstoffs ergab sich das gleiche. Diese Versuche zeigen also, daß nicht alle Indolderivate aus alkoholischer Lösung an Al_2O_3 adsorbiert werden.

d) Weitere Zonen. In sämtlichen Kohlarten trat insbesondere zur Zeit der optimalen vegetativen Entwicklung eine weitere rote Farbzone (Zone „K") auf, die mit der Nitritreaktion schon in der Kälte eine deutliche Rotfärbung zeigt und sich papierchromatographisch von dem IAN mit Isopropanol und Wasser (9:1) als Lösungsmittel sauber abtrennen läßt. In diesem Lösungsmittel zeigt das IAN einen etwas höheren R_f-Wert als üblich, während die Zone „K" bis zur Lösungsmittelfront läuft. Die Zone „K" zeigt im elektrischen Feld bei einer Stromspannung von 220 V, neutralem Puffergemisch und einer Laufzeit von 12 Std nur sehr geringe Wanderung zur Anode. Im *Avena*test zeigte sie keine Wuchsstoffwirkung. Durch die bisherigen Versuche konnte diese Zone nicht identifiziert werden.

Im Blattextrakt von Grünkohl, Kohlrabi, *Helleborus foetidus* und im Maissamenextrakt (insbesondere nach Pankreatinbehandlung) wurden neben der IES-Zone zwei weitere rote Farbzonen (Zone „E" und „F") gefunden. Diese Zonen „E" und „F" werden im Abschnitt III auf S. 303 beschrieben.

Abschließend sei nochmals auf die Arbeit von LINSER hingewiesen, bei dessen Versuchen der Wuchsstoffwert im Filtrat wesentlich höher lag als im Eluat aus der Al_2O_3-Säule. Da weiterhin bei den Wuchsstofftesten von BENTLEY die Wuchsstoffwerte des IAN beträchtlich höher als die der IES liegen, dürfte die große Wuchsstoffwirkung der Filtrate bei den LINSERschen Versuchen auf die Anwesenheit des IAN zurückzuführen sein.

2. Versuche zur Gehaltsbestimmung von Indolderivaten in verschiedenen Entwicklungsstadien von Kohlpflanzen.

Wie die vorher beschriebenen Versuche an Kohlpflanzen zeigten, erbrachten die Chromatogramme bei der Verarbeitung einer genügenden

Menge Pflanzenextrakt deutlich sichtbare Farbreaktionen. Nun war es von Interesse festzustellen, ob diese Farbzonen in verschiedenen Entwicklungsstadien der Kohlpflanzen Intensitätsänderungen erkennen lassen. Hierbei war ich mir darüber im klaren, daß die verschiedenen zur Vorreinigung des Extraktes erforderlichen Arbeitsgänge viele Fehlerquellen in sich schließen. Es kann aber, wie in Abschnitt Ia und Ib beschrieben, nur dann eine einwandfreie Zonenbildung erreicht werden, wenn die Extraktstoffe genügend vorgereinigt werden. So muß der Extrakt zur Beseitigung eines Teiles der pflanzeneigenen Farbstoffe über Al_2O_3 geleitet werden.

Hierzu hat LINSER bereits verschiedene grundlegende Versuche durchgeführt. Bei einem quantitativen Versuch mit reiner IES-Lösung konnte er beispielsweise nur 76% der verwendeten IES an Al_2O_3 wiederfinden (LINSER 1951, S. 386). LINSER führt dies im Hinblick auf die relativen großen Fehler, welche bei der quantitativen Bestimmung des Wuchsstoffes im physiologischen Test unterlaufen, als ein recht günstiges Ergebnis an.

Weiterhin muß damit gerechnet werden, daß auch bei der papierchromatographischen Bestimmung der Indolderivate Fehler unterlaufen können. Immerhin haben GRASSMANN und HANNIG in ihrer Arbeit über „Ein quantitatives Verfahren zur Analyse der Serumproteine durch Papierelektrophorese" bei gleichmäßigem Anfärben der Streifen mit Amidoschwarz nur geringfügige Abweichungen von der Auswertung mit der Tiseliusapparatur gefunden. Ihre Methode gestattet mit Hilfe des Elphor-Auswertgerätes in einfacher Weise die direkte quantitative Auswertung von Substanzen auf dem Papier. Es wurde daher eine quantitative Auswertung der Indolderivate mit dem von ihnen entwickelten Auswertgerät versucht.

Um vergleichbare Werte zu erhalten, wurden von allen Entwicklungsstadien lediglich die Sproßspitzen mit den ersten 10 makroskopisch erkennbaren Blättern untersucht. 100 g Kohlpflanzen wurden im vereisten Zustand getrocknet. Nach Trockengewichtsbestimmung mit der dreifachen Menge CCl_4 extrahiert. Der CCl_4-Auszug wurde in 3 gleiche Portionen geteilt und durch je eine Säule (3 cm ⌀ und 10 cm Länge) geschickt. Die Eluation des Al_2O_3-Adsorbats erfolgte mit je 30 cm^3 n/10 NaOH + 30 cm^3 Alkohol. Nach Ausschütteln mit Äther und Verdampfen desselben wurde der Rückstand im Exsikkator getrocknet und mit Alkohol aufgenommen. Jeweils ein Drittel des Kohlextraktes (entsprechend $33^1/_3$ g Frischgewicht) wurde auf je einem Streifen chromatographiert. Alsdann wurden die Streifen mit einer 0,5%igen $NaNO_2$-Lösung gleichmäßig besprüht und für die Dauer von 15 min in HCl-Dämpfe gebracht. Zur photometrischen Auswertung wurden die Streifen durch Behandeln mit Transparenzöl im Vakuum durchsichtig gemacht. Sodann erfolgte die Auswertung der Zonen im Elphor-Auswertgerät.

Vorversuche zeigten, daß lediglich die Färbung der IAN-Zone auf dem Papier ausreicht, um einen meßbaren Extinktionswert im Elphor-Auswertgerät zu erzielen. Während der Zeit des Imprägnierens vollzieht sich der oben beschriebene Farbumschlag von blau nach rotbraun.

Es sei erwähnt, daß die IAN-Zone nach Entwicklung mit dem Nitritreagens grünlich fluoresciert. Es besteht also die Möglichkeit, sie auch unter der Analysenquarzlampe zu beurteilen. Dabei ist zu beachten, daß bei höheren Konzentrationen Fluorescenzlöschung eintritt.

Wie aus den Abb. 5 und 6 und der Tabelle 1 hervorgeht, ist im Laufe der Entwicklung beim Rosenkohl eine auffällige Intensitätszunahme der IAN-Zone zu beobachten. Im Samenextrakt (Stadium I) ließ sich kaum IAN nachweisen, jedoch in Pflanzen von 5 cm Höhe (Stadium II). Mit dem weiteren Wachstum nahm der IAN-Gehalt zu. Der höchste Extinktionswert (398) wurde im Stadium der optimalen vegetativen Entwicklung (Stadium IV) gemessen. Nach Anlage der Blüte sank der Extinktionswert wieder auf $^1/_{20}$ dieses Optimalwertes ab. Nach der Winterruhe war mit dem Schossen ein neuer Anstieg des IAN-Gehaltes (132) festzustellen, der im Laufe des Blühens endgültig absank (52).

Abb. 5. Rosenkohlpflanzen in 5 verschiedenen Entwicklungsstadien.

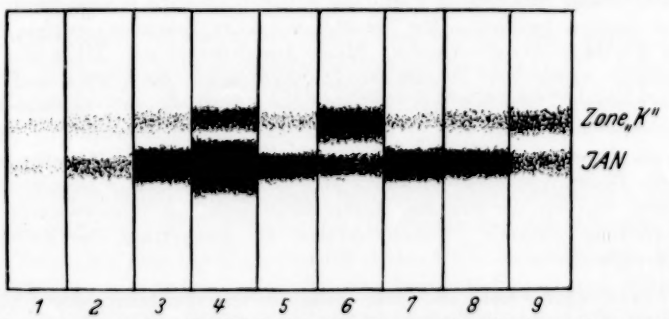


Abb. 6. Rosenkohlextraktstreifen (PC-Methode). Streifen 1 entspricht dem Samenextrakt und Streifen 2 einer 5 cm großen Pflanze. Die den Streifen 3—5 und 7, 8 entsprechenden Pflanzen sind in Abb. 5 zu sehen. Streifen 6 zeigt das Chromatogramm aus Seitensprossenextrakt und Streifen 9 das aus Blütenextrakt.

Hinter der IAN-Zone fand sich in allen Entwicklungsstadien die in diesem Abschnitt auf S. 300 beschriebene Farbzone „K". Wegen ihrer geringen Farbstärke war sie nicht immer auswertbar. Um die Auswertung dieser roten Zone zu ermöglichen, wurde versucht, die Empfindlichkeit des Auswertgeräts durch Zwischen-

Tabelle 1. *Beziehungen zwischen IAN-Gehalt und Entwicklungsstadium beim Rosenkohl.*

Stadium	Alter in Tagen	Gesamthöhe	Blattzahl	Blüte	IAN-Extinktion[1]
I	0	0	0	0	11
II	24	5	3	0	37
III	60	15	15	0	120
IV	120	20	40	+	398
V	150	35	40	+	92
		Winterruhe.			
VI	250	40	40	Schossen	132
VII	280	80	110	Knospen	81
VIII	310	120	110	„Blüte“	52

[1] Zur Relativbestimmung der Extinktion wurden die mit dem Auswertgerät gewonnenen Extinktionswerte auf Millimeterpapier planimetriert. Die in der Tabelle 1 angegebenen Werte sind also Quadratmillimeter je Extinktionsfläche.

schalten eines Spiegelgalvanometers zu erhöhen. Die erreichte Empfindlichkeitssteigerung auf etwa das Zehnfache erwies sich als wertlos. Es wurden größere Ausschläge registriert, die jedoch durch Unebenheiten des Papiers und durch Überlagerung von Pflanzenfarbstoffen in ihrem Kurvenverlauf gestört wurden. Von weiteren Versuchen in dieser Richtung wurde deshalb vorerst abgesehen.

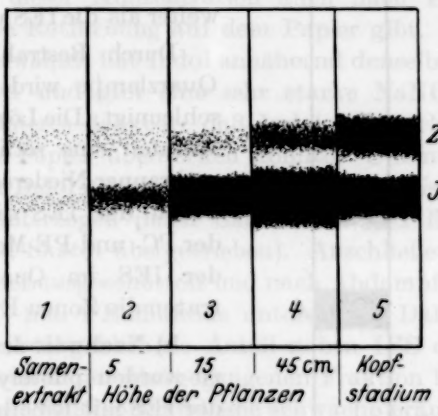


Abb. 7.
Weißkohl in 5 verschiedenen Entwicklungsstadien.

Wie aus der Abb. 7 hervorgeht, war im Weißkohl und bei weiteren Untersuchungen auch im Wirsingkohl im wesentlichen die gleiche Verschiebung des IAN-Gehaltes festzustellen.

Auf Grund der gesammelten Erfahrungen soll versucht werden, eine quantitative papierchromatische Methode zu entwickeln und diese neben physiologischen Testen zur Gehaltsbestimmung der Wuchs- und Hemmstoffe in den Pflanzen heranzuziehen.

III.

1. Über die Photolyse der β-Indolylessigsäure.

a) Zone „E“ und „F“. Läßt man eine Lösung synthetischer IES längere Zeit bei Zimmertemperatur am Licht stehen, so nimmt sie — unter gleichzeitiger Einbuße an biologischer Wirksamkeit — eine rötliche Färbung an. Untersucht man die zersetzte Lösung papier-

elektrophoretisch, so findet man mit Hilfe der Nitrit- und Perchlorsäurereaktion neben der IES-Zone eine weitere sich sofort rotfärbende

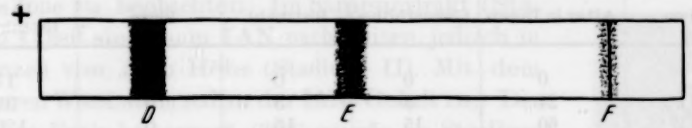


Abb. 8. Zersetzte IES-Lösung mit der PE-Methode untersucht. Nitritreaktionszonen: D (rot) = IES, E (rot) und F (weinrot).

Zone (E), die gleichfalls, jedoch nur etwa halb so weit wie die IES, nach der Anode wandert (Phosphatpuffer p_H 7). Außerdem tritt bei stärkeren IES-Konzentrationen (10^{-3} oder 10^{-2} g/cm³) eine in den HCl-Dämpfen schwach gelbrot gefärbte Zone (F) auf, die nach Erwärmen im Thermostaten (bei 50—60° C mindestens 30 min) eine weinrote Tönung annimmt. Im elektrischen Feld zeigt diese Zone keine Wanderung (Abb. 8).

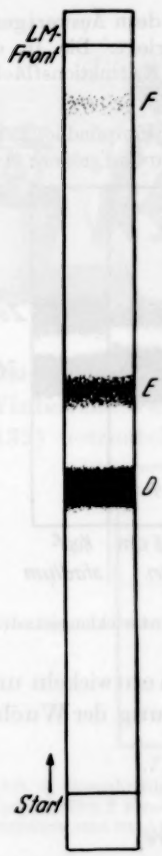


Abb. 9. Zersetzte IES-Lösung mit der PC-Methode untersucht. $NaNO_2$-Reaktionen: D (rot) = IES, E (rot) und F (weinrot).

Bei der PC-Methode läuft die Zone F wesentlich weiter als die IES und die Zwischenzone E (Abb. 9).

Durch Bestrahlen der IES-Lösung mit einer Quarzlampe wird die Zersetzung wesentlich beschleunigt. Die Lösung nimmt bereits nach wenigen Minuten eine rötlichbraune Farbe an, wobei ein rotbrauner Niederschlag ausfällt. Auch hier wurden neben der IES die beiden Zonen E und F mit der PC- und PE-Methode gefunden. Bei Bestrahlen der IES im Quarzkölbchen unter O_2-Abschluß traten die Zonen E und F nicht auf.

b) Nachweis des β-Indolaldehyds. Parallel hierzu wurden photolytische Sensibisilierungsversuche der IES mit Riboflavin in den von BRAUNER (1952) angegebenen und höheren Konzentrationen durchgeführt. Auch hier zeigten sich neben der IES die Zonen E und F. Bei einem Versuch, den Stoff der Zone F mit synthetischem β-Indolaldehyd (IA) papierchromatographisch und papierelektrophoretisch im Vergleichs-, sowie im Mischchromatogramm zu identifizieren, zeigte sich Übereinstimmung. Auch die durch andere Reagentien ($FeCl_3 + HClO_4$, $COCl_2 + HClO_4$, $CO(NO_3)_2 + HClO_4$, $COF_6 + HClO_4$, $Hg(NO_3)_2 + HClO_4$) hervorgerufenen Farbtönungen dieser Zone entsprachen der Indolaldehydzone. Weiterhin fielen die Aldehydreaktionen mit

alkoholischer Pyrrollösung + HCl und Diazobenzolsulfosäure + Natriumamalgam (nach E. FISCHER und PENZOLDT) bei dieser Zone positiv aus. (Das SCHIFFsche Reagens spricht auf Indolaldehyd nicht an.)

Zur Erkennung sehr kleiner Mengen Indolaldehyds sei auf ELLINGER hingewiesen, der folgende Farbreaktion angibt: Erhitzt man eine stark verdünnte IA-Lösung mit etwa der gleichen Menge 20%iger Salzsäure, so färbt sich die Lösung alsbald intensiv gelbrot. — Alkoholische Indol-, Skatol-, IES- und IA-Lösungen (je 10^{-4} g/cm³) wurden nach Versetzen mit HCl mehrere Minuten gekocht. Dabei färbte sich Indol zunächst schwach rötlich, darauf citronengelb, Skatol schwach rot (intermediäres Entstehen von IA nach ELLINGER), IES nach längerem Kochen kaum wahrnehmbar rötlich und Indolaldehyd intensiv gelbrot. Diese gelbrote Färbung wurde ebenfalls bei der aus dem Papier eluierten Zone „F" und weiterhin bei der Untersuchung von Kohlpflanzen-, Spinat- und Maissamenextrakten im Reagensglas erhalten. In einer kurz zersetzten IES-Lösung fiel dieser Nachweis ebenfalls positiv aus.

c) Zone „I". Bei längerer Zersetzung und besonders nach UV-Bestrahlung einer IES-Lösung trat bei der PC-Methode schon in niederen Konzentrationen (10^{-4} g/cm³) und in der Kälte eine Rotfärbung im IA-Zonenbereich auf. Offensichtlich ist diese Zone „I" mit der IA-Zone nicht identisch, da letztere in dieser Konzentration auch nach Erwärmung nur eine sehr schwache Rotfärbung auf dem Papier gibt.

Wie im Abschnitt Ia S. 289 erwähnt, hat Indol annähernd denselben R_f-Wert wie der β-Indolaldehyd und gibt eine sehr starke $NaNO_2$-Reaktion. Es war also ohne weiteres denkbar, daß Indol bei starker Konzentration den IA auf dem Papier überdecken könnte. Um nun festzustellen, ob die Zone „I" mit Indol identisch ist, wurde das Gemisch einer Wasserdampfdestillation unterzogen (nach SALKOWSKI und ELLINGER werden hierbei Indol und Skatol übergetrieben). Anschließend wurden beide Fraktionen mit Äther ausgeschüttelt und nach Abdampfen der Ätherrückstand mit der PC- und PE-Methode untersucht. Dabei zeigte der bei der Destillation zurückgebliebene Anteil neben IES die Zonen „E", „F" und „I". Während in der übergegangenen Fraktion bei der PC-Methode eine sehr schwache Indolzone und eine schwache bräunliche Zone, vermutlich Skatol (Faecesgeruch) nachweisbar waren. Bei der PE-Methode fehlte die Indolzone. Ein Versuch mit synthetischem IA und Indol (je 10^{-3} g/cm³) erbrachte papierelektrophoretisch nach Entwicklung mit dem $NaNO_2$- und $HClO_4$-Reagens ausschließlich den Nachweis der IA-Zone. Indol war auf dem Streifen nicht aufzufinden, obwohl dieses in der vorliegenden Konzentration bei der PC-Methode eine sehr intensive rote Farbzone zeigte. Offenbar diffundiert das Indol bei der Papierelektrophorese (Phosphatpuffer p_H 7) vollkommen auseinander und läßt sich somit nicht mit einer klaren Zonenausbildung erfassen. Bei höheren Indolkonzentrationen färbte sich der ganze Streifen diffus rot.

Aus den Versuchen geht hervor, daß die im IA-Zonenbereich hervorgerufene Rotfärbung nicht durch Indol bedingt sein kann.

2. Oxydation von Tryptophan mit $FeCl_3$.

Da bei der Oxydation von Tryptophan mit Ferrichlorid nach HOPKINS und COLE ebenfalls β-Indolaldehyd entsteht, erschien es von Interesse, bei Anwendung dieses Verfahrens auftretende Zwischenzonen zu erfassen und diese mit den Zonen des IES-Abbaues zu vergleichen. Eine wäßrige Tryptophanlösung (3:10000) wurde mit der fünffachen Menge $FeCl_3$ versetzt und das Gemisch auf dem Wasserbad erhitzt. In kurzen Zeitabständen wurden Proben entnommen und nach Abkühlen erschöpfend mit Äther ausgeschüttelt. Nach mehrmaligem Waschen des Äthers mit Wasser wurde der Äther verdampft und der Rückstand papierchromatographisch untersucht. Folgende Zonen wurden gefunden: Neben IES, E und F zeigte sich eine deutliche rote Zone unterhalb des Tryptophans mit dem R_f-Wert 0,32—0,35 (Zone „H"). Dieselben Zonen konnten auch aus dem kristallinen Endprodukt des Tryptophanabbaues mit Oidium lactis nach einer Arbeitsvorschrift von EHRLICH und JAKOBSEN erhalten werden. Bei 3 Versuchen, die β-Indolylmilchsäure nach diesem Verfahren zu gewinnen, wurde zwar ein kristallines Produkt erhalten, doch war dies jedesmal keine einheitliche Substanz. Deutlich zeigten sich jedesmal die soeben geschilderten Zonen.

Die unterhalb des Tryptophans liegende rote Zone ist mit einer Zone aus dem alkoholischen Extrakt des Grünkohls und mit einer Zone, die bei der Zersetzung der β-Indolylpropionsäure mit Riboflavin entsteht, sowohl bei der PC- als auch PE-Methode identisch. Die bisherigen Versuche haben noch nicht den Nachweis erbringen können, daß es sich bei dieser Zone um die vermutete β-Indolylmilchsäure handelt.

3. Nachweis des β-Indolaldehyds und der β-Indolglykolsäure mit Hilfe der präparativen „Isolierpack"-Methode.

Die soeben beschriebenen Versuche haben gezeigt, daß bei der Behandlung von Tryptophan mit Oidium lactis und $FeCl_3$ die IES als Zwischenstufe auftritt. Auch gelang es, eine weitere Zone („*F*") durch Vergleichs- und Mischchromatogramm mit synthetischem IA indirekt als IA-Zone nachzuweisen. Nun sollte durch die Isolierung der bei der Zersetzung von Tryptophan und IES neu erhaltenen Zonen eine weitere Identifizierung mit der in Ic und d beschriebenen präparativen „Isolierpack"-Methode erreicht werden.

Zu einer wäßrigen Tryptophanlösung (3:10000) wurde die fünffache Menge $FeCl_3$ portionsweise auf dem Wasserbad zugegeben. Diese Mischung wurde 1 Std auf dem Wasserbad erhitzt und dann 10 min gekocht, mit Äther erschöpfend extrahiert, der Äther mit Wasser gewaschen und verdampft. Anschließend wurde der Rückstand mit Alkohol aufgenommen und mit der „Isolierpack"-Methode getrennt. Auf dem ersten Bogen eines Packs wurde synthetischer IA als Misch-

chromatogramm mitlaufen lassen und, nach Entwicklung, die Zone herausgeschnitten. Nach Extraktion derselben mit Äther im Soxhlet und nach Verdampfen des Äthers wurde der Rückstand mit heißem Wasser aufgenommen und durch einen Heißwassertrichter filtriert. Nach Behandeln mit wenig Tierkohle und anschließender Ätherausschüttelung erfolgte nochmaliges Trennen mit der „Isolierpack"-Methode. Die entsprechende Zone wurde wieder mit Äther im Soxhlet extrahiert und der Ätherrückstand mit wenig heißer verdünnter Natronlauge aufgenommen. Aus dieser Lösung wurde die Substanz durch Sättigen mit CO_2 in kristalliner Form abgeschieden. Alsdann wurde aus heißem Wasser und zuletzt aus Chloroform-Petroläther umkristallisiert. Die nahezu farblosen Kristalle schmolzen bei 191—193° C (unkorrigiert). Der Mischschmelzpunkt mit synthetischem IA zeigte keine Depression.

Der Abbau der IES durch Riboflavin wurde entsprechend der Tryptophanoxydation mit der „Isolierpack"-Methode untersucht. Ein Gemisch IES : Riboflavin : Wasser (1:1:5000) wurde mehrere Stunden mit 3000 Lux bestrahlt. Es kam weniger darauf an die IES vollkommen abzubauen, als vielmehr Zwischenstufen des Zersetzungsvorganges zu erfassen. Das Gemisch wurde nach der Bestrahlung unter Zuhilfenahme eines starken Luftstromes auf dem Wasserbad eingeengt und mit Äther erschöpfend extrahiert. Der Ätherrückstand wurde mit Alkohol aufgenommen und mit der „Isolierpack"-Methode aufgetrennt. Das nahezu farblose Produkt ergab für die Zone F einen Schmelzpunkt von 190 bis 193° C (unkorrigiert), während die Zone E bei 174° schmolz. Synthetische β-Indolglykolsäure[1] hatte denselben Schmelzpunkt und zeigte bei der PC- und PE-Methode Übereinstimmung mit der Zone „E".

Nach diesen Untersuchungen kann man annehmen, daß der Abbau des Tryptophans und der IES teilweise über die β-Indolglykolsäure und den β-Indolaldehyd läuft, wie BRAUNER vermutet hat.

4. Präparative Isolierung der Zone „I"[2].

Da die Zone „I" erst nach längerer Zersetzung (bis zu mehreren Tagen) einer IES-Lösung auftrat, war zu vermuten, daß die Substanz dieser Zone ein Endprodukt der photolytischen Zersetzung sein könnte. Mit Hilfe der „Isolierpack"-Methode wurde, wie oben bei den Zonen „*E*" und „*F*" beschrieben, die Zone „I" mit Äther aus dem Papier extrahiert. Nach Umkristallisieren aus Methanol-Petroläther und Trocknen über $CaCl_2$ im Hochvakuum zeigte diese Substanz einen unscharfen Schmelzpunkt bei 51—54° C. Das gewonnene Produkt war intensiv rotbraun und zeigte im UV-Licht in verdünnter Lösung blaue Fluorescenz. Die Substanz verhält sich wie ein Indikator, da sie in alkalischer Lösung eine gelbe und in saurer

[1] Diese Substanz wurde freundlicherweise von Herrn W. SCHAEG dargestellt.
[2] Diese Versuche wurden teilweise mit Herrn R. THALACKER durchgeführt.

Lösung eine rote Färbung annimmt. Vermutlich handelt es sich hier um einen polymeren Körper mit Farbstoffcharakter. Wie bereits oben beschrieben, konnten bei der photolytischen Zersetzung der IES Skatol, Indol und Indolaldehyd nachgewiesen werden. Es besteht daher die Möglichkeit, daß das Produkt der Zone „I" aus diesen Abbauprodukten entsteht. Mit den von ELLINGER und FLAMAND beschriebenen Kondensationsprodukten (Triindylmethanfarbstoffen nach Kochen von Indolaldehyd und α-Methylindol mit H_2SO_4) scheint dieses Produkt der Zone „I" offensichtlich nicht identisch zu sein, da die Schmelzpunkte der von diesen Autoren erhaltenen freien Farbsäuren und Farbbasen über 200° C liegen. Eine Mikromolekulargewichtsbestimmung nach RAST konnte nicht durchgeführt werden, da die Substanz der Zone „I" sich beim Erhitzen mit Campher zersetzt.

Die Mikroanalyse[1] ergab die folgenden Daten:

1. 4,431 mg gaben 11,45 CO_2 und 2,67 mg H_2O.
2. Die Aschebestimmung bei CH ergab 0,000 mg.
3. 5,054 mg verbrauchten 5,59 cm³ n/50 $Na_2S_2O_3$.
4. 5,233 mg gaben 0,332 cm³ N_2 (23,5/757).

Hieraus ergibt sich:

C	70,52%
H	6,75%
O	14,75%
N	7,27%

Neben der Zone „I" trat nach längerer photolytischer IES-Zersetzung eine weitere mit dem Nitritreagens rotgefärbte Zone auf, deren Rf-Wert nahezu 1 betrug. Auch sie wurde präparativ isoliert. Im Gegensatz zur Zone „I" ist diese Substanz nach Umkristallisieren aus Alkohol—Wasser und Methanol—Petroläther gelbbraun gefärbt. Sie zeigt ebenfalls Indikatoreigenschaften und fluoresziert in verdünnter Lösung unter der Analysenquarzlampe gelbgrün. Die Substanz fängt bei 39° C an zu sintern und schmilzt unscharf bei 48—51° C.

Folgende mikroanalytische Daten wurden ermittelt:

1. 4,204 mg gaben 10,60 mg CO_2 und 2,66 mg H_2O.
2. Die Aschebestimmung bei CH ergab 0,027 mg.
3. 5,233 mg verbrauchten 5,17 cm³ n/50 $Na_2S_2O_3$.
4. 5,309 mg gaben 0,266 cm³ N_2 (23,5/757).

Hieraus ergibt sich:

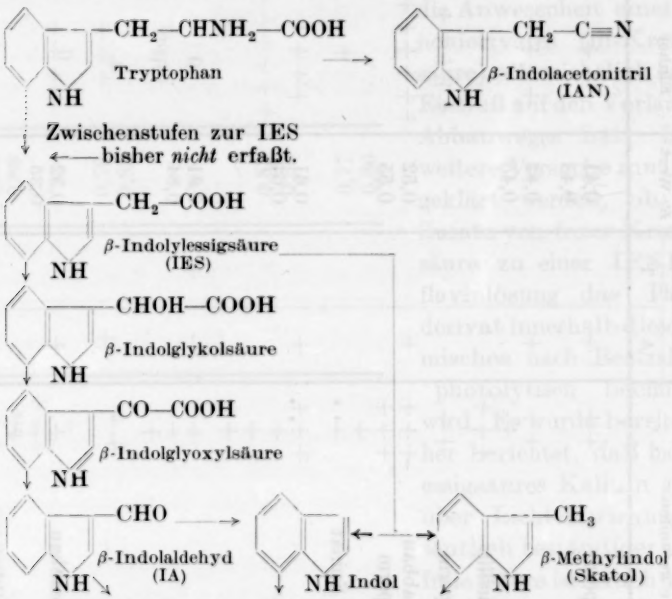
C	68,81%
H	7,07%
O	13,18%
N	5,74%

[1] Die Analysen wurden von Herrn ALFRED BERNHARDT, Mikroanalytisches Laboratorium im Max-Planck-Institut für Kohlenforschung, Mühlheim (Ruhr), durchgeführt.

Bei der Addition der Mikroanalysenzahlen ergibt sich eine Differenz von etwa 5% zu 100%. Die Ursache dieser Differenz konnte bisher nicht gefunden werden.

Auch hier war es nicht möglich, das Molekulargewicht nach der RAST-schen Camphermethode zu ermitteln.

Die in Pflanzenextrakten und beim IES- und Tryptophanabbau bisher gefundenen Indolderivate sind in nachstehender Tabelle aufgeführt. Dabei gibt die Pfeilrichtung den auf Grund der bisherigen Versuche vermuteten Weg des IES- und Tryptophanabbaues an.



Farbstoff (aus IA, Skatol bzw. Indol?).

Versetzt man eine IES-Lösung nicht mit reinem Riboflavin, sondern mit einer Riboflavinlösung, welcher ein Lösungsvermittler z. B. m-kresatinsaures Natrium zugesetzt wurde und bestrahlt dieses Gemisch mit etwa 5000 Lux mehrere Tage lang, so erhält man dieselben Abbauprodukte der IES, die oben eingehend beschrieben wurden. Der Lösungsvermittler wurde alsdann mit Hilfe der $FeCl_3$-Reaktion (Rotviolettfärbung) auf dem Papier identifiziert und präparativ aufgearbeitet. Nach Extraktion aus dem Papier mit Äther und NH_3 wurde die freie Säure mit verdünnter Salzsäure gefällt und nach mehrmaligem Umkristallisieren aus heißem Wasser über $CaCl_2$ im Hochvakuum getrocknet. Die so gewonnene Substanz schmolz scharf bei 171—172° C (unkorrigiert) Die mikroanalytischen Untersuchungen (C, H, O und Mol.-Bestimmung

Tabelle 2.

Zone	Substanz	Wo gefunden		Adsorption A	Adsorption T	R_f-Wert	Elphor	Nitritreaktion	Bemerkung
A	Tryptophan	Mais-Endosperm	++	+		0,41 0,43	++	bräunlich gelb	
B	?	Rosenkohl	++	+		0,42	++++	rot	Nitritreaktion verblaßt
		Grünkohl	+			0,45			
		Handelspenicillin	+++						
C	?	Mais-Endosperm	++				+++++	gelb	
D	β-Indolylessigsäure	Tryptophanabbau	+++	+		0,52	++++++	rot	
		Mais-Endosperm	+++			0,55			
		Kohlarten	+						
		Helleborus, Spinat	+						
E	β-Indolglykolsäure	IES-Abbau	+++	+		0,61	++++	rot	
		Grünkohl	+			0,64			
		Helleborus	+						
		Spinat	+						
F	β-Indolaldehyd	IES-Abbau	+	—	+	0,81	0	weinrot	
		Helleborus	+			0,84			
		Grünkohl	+						
G	?	Weißkohl	++				+	braunrot	äther-unlöslich
H	?	Propionsäureabbau	+	+		0,32	++++	rot	
		Grünkohl	+			0,35			
		Kohlrabi	+						
		Tryptophanabbau	++						
I	? (Farbstoff)	IES-Abbau	+++				0	rot	
		Indolpropionsäureabbau	+++						
		Indolbuttersäureabbau	+++						

K	?						
		sämtliche Kohlarten	+ bis +++	+		0	rot
	β-Indolacetonitril	sämtliche Kohlarten	+ bis +++	+		+	anfangs blau, später rotbraun
	β-Methylindol (Skatol)	IES-Abbau	+	–	0,83 0,86	0 + +	rötlich braun
	β-Indolacetamid		–	+	0,79 0,82	+ + +	rot
	Indol	IES-Abbau				diffus	rot
	β-Indolglyoxylsäure	IES-Abbau	+	–	0,53 0,55	+ + + +	gelb
	Gramin				0,77 0,80	+	rötlich braun

	diffundiert im elektrischen Feld
	liegt PC und PE über der IES-Zone

nach RAST, sowie C-Methylgruppe- und Äquivalentbestimmung) ergaben nahezu 100%ige Übereinstimmung mit den für die m-Kresatinsäure berechneten Analysenzahlen.

Diese Versuche zeigen, daß bei der in vitro durchgeführten Photolyse der IES die Anwesenheit eines Phenolderivates (m-Kresatinsäure) offensichtlich keinen Einfluß auf den Verlauf des Abbauweges hat. Durch weitere Versuche muß noch geklärt werden, ob nach Zusatz von freier Kresatinsäure zu einer IES-Riboflavinlösung das Phenolderivat innerhalb dieses Gemisches nach Bestrahlung photolytisch beeinflußt wird. Es wurde bereits früher berichtet, daß indolylessigsaures Kalium gegenüber Lichteinwirkung wesentlich beständiger als die freie Säure ist. Auch dürfen diese Versuche einen gewissen Einblick auf das Verhalten von Phenolderivaten innerhalb des Stoffwechsels der lebenden Pflanze gestatten.

5. Versuche zum PC- und PE-Nachweis des β-Indolacetaldehyds.

Nach einer Arbeitsvorschrift von P. LARSEN wurde ein Gemisch von 8 mg Isatin oder Ninhydrin + 7,3 mg

Tryptophan + 1 g KH_2PO_4 2 Std am Rückflußkühler gekocht. Bei dieser Behandlung soll der β-Indolacetaldehyd entstehen. Die nach dem Kochen rötlich gefärbte Lösung wurde, wie angegeben, mit Äther ausgeschüttelt und nach Verdampfen des Äthers der Rückstand mit der PC- und PE-Methode untersucht. Die Chromatogramme ergaben, auch bei höheren Tryptophan + Isatin-Ansätzen keine einheitliche Substanz. Insgesamt ließen sich drei gelbe und eine rötliche Farbzone nachweisen. Da bei diesen Versuchen kein synthetischer β-Indolacetaldehyd zur Verfügung stand, war eine Identifizierung der Zonen vorläufig nicht möglich.

Zusammenfassung.

1. Aufbauend auf der von LINSER eingeführten Methode zur chromatographischen Trennung von Pflanzenwuchsstoffen wird die weitere Aufgliederung des Pflanzenextraktes mit Hilfe der PC- und PE-Methode beschrieben.

2. Bei rein empirisch durchgeführten papierchromatographischen Vorversuchen erwies sich ein Lösungsmittelgemisch von Isopropanol—Wasser—NH_3 (80:15:5) als besonders geeignet. Die Mehrzahl der geprüften Indolderivate zeigen hier einen R_f-Wert $< 0{,}90$, womit eine einwandfreie Trennung gewährleistet ist. Die Entwicklung der Chromatogramme erfolgte mit Hilfe der $NaNO_2$-Reaktion (MITCHELL und BRUNSTETTER 1939) und der $HClO_4$-Reaktion (GORDON, WEBER 1951 und BENNET-CLARK, TAMBIAH, KEFFORD 1952).

3. Papierelektrophoretische Versuche mit dem Elphor-H-Gerät nach GRASSMANN und HANNIG ergaben bei der Verwendung von Phosphatpuffer nach SÖRENSEN (p_H 7) eine saubere Trennung der geprüften Indolderivate.

4. Bei der Untersuchung von Pflanzenextrakten ist eine weitgehende Vorreinigung unbedingt erforderlich. Die hierzu entwickelten Methoden werden in den Abschnitten Ia und Ib beschrieben.

5. In verschiedenen Pflanzenextrakten fanden sich Zonen, die nicht mit den zur Verfügung stehenden synthetischen Indolderivaten zu identifizieren waren. Zur Anreicherung dieser Zonen wurde sowohl für die Papierchromatographie als auch für die Papierelektrophorese eine präparative „Isolierpack"-Methode ausgearbeitet.

6. Zur Voranreicherung ist es zweckmäßig, die „aufsteigende" Chromatographie an der Cellulosesäule zu verwenden. Sie gestattet die Verarbeitung einer großen Menge Pflanzenmaterials in einem Arbeitsgang.

7. Alkoholischer Kohlextrakt wurde nach LINSER über Al_2O_3 geleitet. Nach Eluation der Al_2O_3-Säule mit NaOH, Ausschütteln des Eluats mit Äther im alkalischen und sauren p_H-Bereich, wurde der Rückstand mit der PC- und PE-Methode untersucht. Hierbei entsprach die positive

Nitritreaktion, die auch LINSER erhalten hat, nur zu einem geringen Teil der IES. Neben dieser wurde eine zweite, stärkere rote Farbzone sichtbar (Zone „B").

8. Das durch die Al_2O_3-Säule gelaufene Filtrat wurde mit CCl_4 aufgenommen und über Al_2O_3 geleitet. Das Eluat ergab im PC- und PE-Chromatogramm das von JONES und Mitarbeitern isolierte Indolacetonitril als sehr stark gefärbte Zone, deren Farbton mit $NaNO_2$ nach kurzer Zeit von dunkelblau nach rotbraun umschlägt. Außer der Nitrilzone zeigten sich noch 2 weitere rote Zonen.

9. Vorversuche zur Gehaltsbestimmung von Indolderivaten ergaben in verschiedenen Entwicklungsstadien der Kohlpflanzen deutliche Unterschiede der einzelnen Zonenstärken.

10. Mit UV und Riboflavin behandelte IES-Lösungen ergaben bei der PC- und PE-Methode neben der IES zwei weitere Zonen (E und F). Die gleichen Zonen wurden bei der Behandlung von Tryptophan mit $FeCl_3$ und Oidium lactis festgestellt.

11. Mit Hilfe der „Isolierpack"-Methode konnte die Zone „E" (F.P. 174° C) isoliert werden. Sie erwies sich als identisch mit β-Indolglykolsäure. Die Zone F (F.P. 191—193° C) zeigte Übereinstimmung mit β-Indolaldehyd.

12. Die nach einer Angabe von LARSEN durchgeführte Behandlung von Tryptophan mit Isatin oder Ninhydrin, wobei Indolacetaldehyd entstehen soll, ergab auf dem Chromatogramm keine einheitliche Substanz. Insgesamt ließen sich 3 gelbe und eine rötliche Farbzone nachweisen. Eine Identifizierung dieser Zonen war bislang nicht möglich.

13. Die Anwendung der angegebenen Methoden — besonders im kombinierten Verfahren — zur weiteren Trennung von pflanzeneigenen Wuchs- und Hemmstoffen, erscheint auf Grund der vorliegenden Ergebnisse aussichtsreich.

14. In Tabelle 2 sind die wichtigsten Erkennungsmerkmale der isolierten, bzw. untersuchten Indolderivate tabellarisch zusammengestellt.

Die Anzahl der Kreuze in Spalte 3 bedeuten: + wenig, ++ mittelmäßig, +++ viel gefunden. In Spalte 4 und 5 bei der Adsorption an Al_2O_3 bedeutet A Alkohol, T Tetrachlorkohlenstoff. In Spalte 6 ist die Differenz der R_f-Werte für die einzelnen Zonen in Abhängigkeit vom Alter des Lösungsmittels berechnet. In Spalte 7 (Elphor) bedeutet die Anzahl der Kreuze die Wanderungsgeschwindigkeit der Zonen im elektrischen Feld bei einer Laufzeit von 12 Std (0 keine, ++++++ weite Wanderung zur Anode).

Es ist mir eine angenehme Pflicht, Herrn Prof. Dr. D. v. DENFFER für die Anregung und stetige Unterstützung zum Gelingen dieser Arbeit meinen verbindlichsten Dank zu sagen. Weiterhin danke ich Herrn Prof. Dr. R. FEULGEN, in dessen Institut die vorliegenden Untersuchungen durchgeführt wurden und ganz besonders Herrn Prof. Dr. M. BEHRENS, der mich hierbei immer tatkräftig und hilfsbereit unterstützte. Großer Dank gebührt ebenfalls Herrn Prof. Dr. F. KROLL-FFEIFFER für mehrere Indolderivate, die in seinem Institut hergestellt wurden.

Literatur.

BEHRENS, M., u. A. FISCHER: Naturwiss. **41**, 13 (1954). — BEIN, M. R. SIGNER u. W. H. SCHOPFER: Experientia (Basel) **3**, 291 (1947). — BENNET-CLARK, T. A., and N. P. KEFFORD: Nature (Lond.) **171**, 645 (1953). — BENNET-CLARK, T. A., M. S. TAMBIAH and N. P. KEFFORD: Nature (Lond.) **169**, 452 (1952). — BONNER, D. M.: Bot. Gaz. **100**, 200 (1938). — BOYSEN-JENSEN, P.: Planta (Berl.) **31**, 653 (1941). — BRAUNER, L.: Naturwiss. **39**, 282 (1952); **40**, 23 (1953). Z. Bot. **41**, 291 (1953). — BÜNNING, E.: Planta (Berl.) **27**, 583 (1938). — CRAMER, F.: Papierchromatographie. Verlag Chemie 1953. — DENFFER, D. v.: Naturwiss. **37**, 296, 317 (1950). — DENFFER, D. v., M. BEHRENS u. A. FISCHER: Naturwiss. **39**, 258 (1952); **39**, 550 (1952). — DENFFER, D. v., u. A. FISCHER: Naturwiss. **39**, 549 (1952). — EHRLICH, F., u. K. A. JAKOBSEN: Ber. dtsch. chem. Ges. **44**, 896 (1911). — ELLINGER, A.: In ABDERHALDENS Handbuch der biologischen Arbeitsmethoden, Abt. 1, Teil 7, S. 779. — ELLINGER, A., u. CL. FLAMAND: Z. physiol. Chem. **62**, 276 (1909). — FISCHER, A., u. M. BEHRENS: Z. physiol. Chem. **291**, 14 (1952); **291**, 242 (1952). — GALSTON, A. W.: Bot. Review **16**, 361 (1950). — GALSTON, A. W., and R. S. BAKER: Amer. J. Bot. **36**, 773 (1949). — GORDON, S. A., and R. P. WEBER: Plant Physiol. **26**, 192 (1951). — GRASSMANN, W., u. K. HANNIG: Naturwiss. **37**, 496 (1950). — Z. physiol. Chem. **290**, 1 (1952). — HOPKINS, F. G., and S. W. COLE: J. of Physiol. **29**, 464 (1930). — HOUGH, L., I. K. N. JONES and W. H. WADMAN: Nature (Lond.) **162**, 448 (1948). — JERCHEL, D., u. R. MÜLLER: Naturwiss. **38**, 561 (1951). — JONES, E. R. H., H. B. HENBEST, S. F. SMITH and J. A. BENTLEY: Nature (Lond.) **169**, 485 (1952). — KÖGL, F., H. ERXLEBEN u. C. KONINGSBERGER: Z. physiol. Chem. **280**, 135 (1944). — LAIBACH, F., u. O. FISCHNICH: Planta (Berl.) **26**, 81 (1937). — LARSEN, P.: Dansk bot. Ark. **11**, Nr 9 (1944). — LINSER, H.: Planta (Berl.) **39**, 377 (1951). — LINSER, H., u. F. MASCHEK: Planta (Berl.) **41**, 567 (1953). — LUCKWILL, L. C.: Nature (Lond.) **169**, 375 (1952). — MITCHELL, J. W., and B. C. BRUNSTETTER: Bot. Gaz. **100**, 802 (1939). — PADECO, H.: Bull. Soc. Chim. biol. Paris **33**, 1915 (1951). — POHL, R.: Planta (Berl.) **39**, 105 (1951). — PORTER, W. L.: Analyt. Chem., Washington **23**, 412 (1951). — REINERT, J.: Naturwiss. **39**, 47 (1952). — SALKOWSKI, E.: Z. physiol. Chem. **9**, 23 (1885). — Biochem. Zbl. **97**, 123 (1919). — SCHENCK, G. O., u. K. G. KINKEL: Naturwiss. **38**, 503 (1951). — TANG, Y. W., and J. BONNER: Arch. of Biochem. **13**, 11 (1947). — THIMANN, K. V.: Plant growth hormones. New York 1952. — WEIL, L., W. G. GORDON and A. R. BUCHERT: Arch. of Biochem. a. Biophysics **33**, 90 (1951). — WIELAND, TH.: Liebigs Ann. **564**, 152 (1949). — WIELAND, TH., u. L. BAUER: Angew. Chem. **63**, 511 (1951). — WIELAND, TH., u. L. WIRTH: Angew. Chem. **63**, 171 (1951).

Dr. ADOLF FISCHER, Mutterstadt (Pfalz), Speyererstraße 43.

Planta, Bd. 43, S. 315—324 (1954).

Aus dem Pflanzenphysiologischen Institut der Universität Göttingen.

ÜBER DIE WIRKUNG DER TAGESLÄNGE VOR DER KURZTAGINDUKTION AUF DIE BLÜTENBILDUNG VON KALANCHOË BLOSSFELDIANA.

Von

RICHARD HARDER und ROBERT BÜNSOW.

Mit 5 Textabbildungen.

(Eingegangen am 9. Dezember 1953.)

In den Arbeiten über das Zustandekommen des Blühens der Pflanzen stehen 2 Gesichtspunkte im Vordergrund: der Nachweis stofflicher Veränderungen, die das Blühen auslösen, also die Suche nach dem „Blühhormon", und andererseits das Bestreben, die inneren Bedingungen in den Pflanzen zu erkennen, die die Voraussetzung für das Zustandekommen dieser ausschlaggebenden stofflichen Vorgänge bilden. Das zweite Ziel strebt besonders BÜNNING (1953) seit einer Reihe von Jahren in seinen groß angelegten Gedankengängen und Versuchen an (endogene Rhythmik, photophile und skotophile Phase). Die nachstehend geschilderten Versuche wollen keinen Beitrag in letzterer Richtung bringen, sondern suchen nach Belegen für die am Zustandekommen des Blühens selbst beteiligten stofflichen Vorgänge.

Bei den Kurztagpflanzen wirkt bekanntlich langer Tag hemmend auf das Blühen. Unsere Versuche beschäftigen sich mit diesem hemmenden Einfluß, und zwar speziell mit der Frage, ob der lange Tag nur dann hemmend auf die Blütenbildung wirkt, wenn er während oder nach der Kurztaginduktion gegeben wird, oder ob eine ungünstige Beeinflussung des Blühens auch schon aus Zeiten stammen kann, die *vor* der Kurztaginduktion liegen.

Es handelt sich also um die Entscheidung, ob die hemmende Wirkung des Langtags das Vorhandensein des blütenbildenden Prinzips zur Voraussetzung hat, oder ob sich auch unabhängig vom „Blühhormon" ein der reproduktiven Tendenz antagonistischer Vorgang in den Pflanzen vollzieht.

Versuchsanordnung.

Die Pflanzen wurden zur Blütenbildung 9stündigem Kurztag ausgesetzt, und zwar während 2, 3, 4 und 8 Tagen; Kontrollgruppen blieben ohne Kurztag. *Vor* der Kurztagbehandlung, die im Juni stattfand, bekamen die Pflanzen während 4 Wochen Langtag, und zwar in 7 Abstufungen (12, $12^1/_2$, 13, 14, 16, 20 und 24 Std, also von Null bzw. sehr

schwach bis sehr stark). Nach Beendigung der Kurztaginduktion kamen sie in 13stündigen Tag, also in eine Tageslänge, die für unser Versuchsobjekt nur wenig oberhalb der kritischen Tageslänge liegt. Hier blieben sie fast 2 Monate und erhielten dann — es war inzwischen Herbst geworden — natürliche Tageslänge; als diese sich immer mehr einem Kurztag näherte, wurde in der Mitte der Nacht 1 Std Störlicht eingeschaltet.

Der Versuch wurde in einem großen Kalthaus, das hinten und an einer Seite eine Mauer hatte, auf einer Grundfläche von 5×10 m aufgestellt. Die Belichtung war im großen ganzen gleichmäßig, einige Gruppen von Pflanzen, die nahe der Mauer standen, erhielten aber etwas schwächeres Licht.

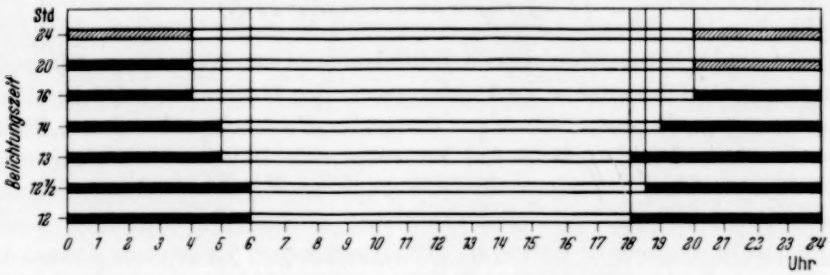


Abb. 1. Verteilung der Licht- und Dunkelstunden während der Vorbelichtung. Schwarze Füllung: dunkel, gestrichelte Füllung: elektrisches Licht, ungefüllt: Tageslicht.

Die Anzucht der Pflanzen hatte im Winter im Gewächshaus im natürlichen Kurztag mit nächtlichem Störlicht, später im natürlichen sommerlichen Langtag stattgefunden. Während des Versuchs wurde die Tageslänge durch Überstülpen von lichtdichten Dunkelkästen (mit Papier bespannte Holzrahmen) geregelt; die Dunkelstürze wurden an den aus Abb. 1 ersichtlichen Morgen- bzw. Abendstunden abgenommen (je nach Erfordernis zwischen 4 und 6 Uhr) bzw. übergesetzt (zwischen 18 und 20 Uhr). Für den 20stündigen Langtag wurde elektrisches Zusatzlicht von 20—24 Uhr (Ausschaltung durch eine Schaltuhr) und für den 24stündigen Langtag bis morgens 4 Uhr gegeben. Die elektrischen Birnen (100 Watt, mattiert) hingen in den Dunkelstürzen, die innen mit weißem Papier ausgekleidet waren, in 45 cm Abstand über dem obersten Laubblattpaar der Pflanzen. Die Dunkelstürze (40×40 cm Grundfläche und 80 cm Höhe) hatten oben und unten Lüftungsklappen, die so konstruiert waren, daß kein Licht durch sie einfallen konnte, aber gute Luftdurchströmung stattfand.

Versuchsdaten: Aussaat am 1. 12. 52; Größe der Pflanzen bei Versuchsbeginn etwa 18 cm (10 Blattpaare, 11. Blattpaar eben sichtbar). Bis zum Versuchsbeginn wurden die Pflanzen durch frühzeitiges Ausbrechen der Achselknospen unverzweigt gehalten. Beginn der Vor-

behandlung mit dem 12—24stündigen Langtag am 8. 6. 53 um 20 Uhr (Versuchsbeginn). Erster Kurztag (9stündig) am 7. Juli; Nachbehandlung mit 13stündigem Tag 2—8 Tage später bis zum 4. September; vom 5.—13. September in natürlicher Tageslänge; vom 14. September bis Ende November (Versuchsende) in natürlicher Tageslänge mit nächtlichem Störlicht.

Jede Gruppe bestand aus 9 Pflanzen; die wichtigeren Gruppen wurden doppelt (13- und 20stündiger Langtag) bzw. dreifach ($12^1/_2$- und 24stündiger Langtag) besetzt, um sicherere Mittelwerte zu erhalten. Im ganzen kamen 65 Gruppen mit zusammen 585 Pflanzen in den Versuch.

Ergebnisse.

Durch besondere Verhältnisse, deren Schilderung sich hier erübrigt, kamen auch die Kontrollpflanzen in geringem Maße zum Blühen. Für das Versuchsergebnis ist das ohne Bedeutung, da die schwache Blühtendenz bei sämtlichen Pflanzen des gesamten Bestandes vorlag und der Einfluß der Langtagvorbehandlung daher trotzdem durch den Vergleich der Versuchspflanzen mit den Kontrollen und der einzelnen Versuchsgruppen untereinander einwandfrei ermittelt werden konnte.

Tabelle 1. *Zeit vom Beginn der Kurztaginduktion (7.7.53) bis zum ersten Sichtbarwerden der Blütenstandsanlage in Tagen.*

Dauer des Langtages Std	Anzahl der Kurztage 2	3	4	8
12	~15			
12.5	26	23	18	15
13	35	31	27	23
14	38	38	25	24
16	43	37	36	27
20	38	35	37	24
24	38	41	36	25
Mittel	36	34	30	23

Wie nicht anders zu erwarten, traten die Infloreszenzen umso früher auf, je mehr 9stündige Kurztage die Pflanzen erhalten hatten (Zahlenfolge von links nach rechts in Tabelle 1); für unsere Ziele ist das ohne Bedeutung. Liest man die Tabelle von oben nach unten, so ergibt sich, daß die Blütenstände um so später sichtbar wurden, je länger der Tag während der 4wöchigen Vorbehandlung vor der Kurztaginduktion war. Dabei treten zwar einige kleine Unregelmäßigkeiten auf und vor allem fallen die Werte mit dem 16stündigen Langtag gänzlich aus der Reihe; letzteres hat seinen Grund sehr wahrscheinlich darin, daß die ganze Gruppe den schlechtest beleuchteten Platz im ganzen Gewächshaus hatte. Die kleinen Unregelmäßigkeiten gleichen sich aus, wenn man die Einzelwerte bei der 2-, 3-, 4- und 8tägigen Kurztaginduktion unberücksichtigt läßt und aus ihrer Gesamtheit den Mittelwert für jede Langtagdauer herstellt. Diese Werte sind in Abb. 2 graphisch dargestellt (unter Weglassung des Wertes nach dem 16stündigen Langtag); die Blüten wurden um so später sichtbar, je länger der Langtag vor der Kurztag-

induktion war. Sehr deutlich wird der hemmende Einfluß des Langtags auch bei Gegenüberstellung der „Blühtermine" nach Behandlung mit dem $12^1/_2$- und 24stündigen Langtag (Abb. 3): Das Sichtbarwerden der Blütenstände war um 10—18 Tage verzögert.

Auch noch Monate später (November), als die Infloreszenzen sich entwickelt und die Blüten sich geöffnet hatten (Abb. 5), war die Hemmung durch den Langtag noch unverkennbar. Die graphische Darstellung in Abb. 4 zeigt — wie es auch nicht anders möglich sein konnte —, daß die Blütenzahl je Pflanze am 11. Oktober nach

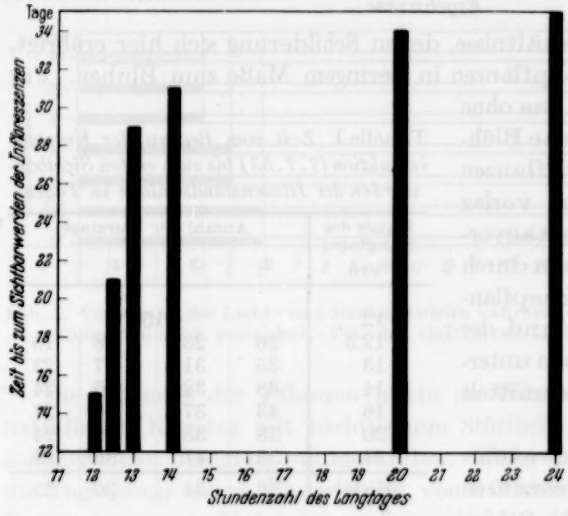


Abb. 2.

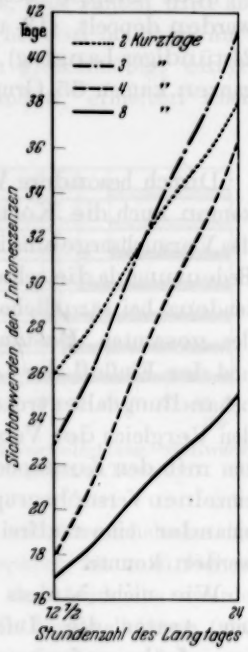


Abb. 3.

Abb. 2. Tage bis zum Sichtbarwerden der Infloreszenzen nach Vorbehandlung mit 12- bis 24stündigem Tag. Mittelwerte aus den Versuchen mit 2- bis 8tägiger Kurztaginduktion.

Abb. 3. Sichtbarwerden der Infloreszenzen (Tage nach Versuchsbeginn) nach Vorbehandlung mit $12^1/_2$- und 24stündigem Langtag.

8tägiger Kurztaginduktion zwischen nahe an 300 und fast 500 betrug (obere Kurve); bei den anderen Expositionsdauern (4, 3, 2 und 0 Tage) war sie um so geringer, je weniger Kurztage die Pflanzen erhalten hatten. Daß auch ohne Kurztaginduktion (Kontrolle, unterste Kurve) Blüten auftraten, liegt, wie eingangs schon gesagt, daran, daß durch die besonderen Verhältnisse beim Gesamtversuch auch ohne eigentliche Versuchsreizung schon schwache Blühtendenz vorhanden war. Das für unsere Fragestellung Wesentliche ist, daß die Blütenzahlen bei sämtlichen Reihen (0—8 Kurztage) um so niedriger waren, je länger der Tag war, mit dem die Pflanzen während der 4 Wochen vor der Kurztaginduktion vorbehandelt worden waren. Die Werte bei Behandlung

mit 12stündigem Tag sind in Abb. 4 nicht mit eingetragen, weil diese Tageslänge für Kalanchoë Bloßfeldiana noch blütenauslösender Kurztag ist; sie lagen in allen Gruppen zwischen ungefähr 500 und ungefähr 600 und wurden nur geschätzt, nicht genau gezählt[1]. Bei den schwachen Induktionen (2—4 Kurztage) wirkte schon der 13stündige Langtag sehr stark hemmend gegenüber dem $12^1/_2$stündigen (höchstens 142 Blüten gegenüber 352), bei Verlängerung der Vorbehandlungstageslänge auf 14 Std sank sie auf 40 und weniger, bei 16 und mehr Stunden trat nur noch weniger als eine Blüte je Pflanze auf, so daß sich diese Werte in der Abb. 4 überhaupt nicht mehr darstellen lassen. Bildet man das Mittel aus sämtlichen Versuchen mit gleicher Tageslänge der Vorbehandlung, so erhält man folgende Reihe:

12 Std	500—600 Blüten,
$12^1/_2$ Std	305 Blüten,
13 Std	109 Blüten,
14 Std	84 Blüten,
16 Std	(49) Blüten,
20 Std	57 Blüten,
24 Std	58 Blüten.

Bei Werten des Langtages in der Nähe der kritischen Tageslänge ist also die hemmende Wirkung relativ am stärksten, von etwa 16 Std an bis zum Dauerlicht trat kaum noch eine Verstärkung der Wirkung ein[2].

Die in der Abb. 4 zum Ausdruck kommende Wirkung war auch in früheren Entwicklungsstadien schon in gleicher Weise zu erkennen. Auch am 6. August und 1. September waren die Blüten schon durchgezählt worden; ihre Zahl war dabei natürlich noch nicht so hoch. Von den dabei erhaltenen Werten seien hier, willkürlich herausgegriffen, aus der Zählung vom 1. September genannt: Nach zweimaliger Kurztagbehandlung im Anschluß an $12^1/_2$stündigen Langtag 51 Blüten je Pflanze, nach 13stündigem 6,9 und nach 24stündigem 0,9; nach achtmaliger

[1] Bei einer nach Abschluß des Manuskriptes vorgenommenen Zählung am 24. November ergaben sich für die Vorbehandlung mit 12stündigem Tag folgende Blütenzahlen für die Induktion mit 0, 2, 3, 4 und 8 Kurztagen: 475, 544, 564, 587 und 611. Daß die Zahlen so glatt den Erwartungen entsprechen, ist natürlich Zufall.

[2] Nach Abschluß des Manuskripts wurden am 24. November folgende Blütenzahlen ermittelt:

Tagesdauer bei der Vorbehandlung	Kurztage				
	0	2	3	4	8
$12^1/_2$	159	377	451	489	549
13	1,8	20	100	253	419

Der Charakter der Kurven war also völlig der gleiche wie in Abb. 4, nur lagen alle Werte infolge der inzwischen noch hinzugekommenen Blüten höher.

nach $12^1/_2$stündigem Langtag 96 Blüten, nach 13stündigem 61 und nach 24stündigem 31.

Auch ohne Zählungen waren die Folgen der verschiedenen Tageslängen vor der Kurztagbehandlung völlig eindeutig zu erkennen. Deshalb sind in Abb. 5 einige Photographien von Versuchspflanzen zusammengestellt. Die Unterschiede kommen nicht nur in der Zahl der Blüten

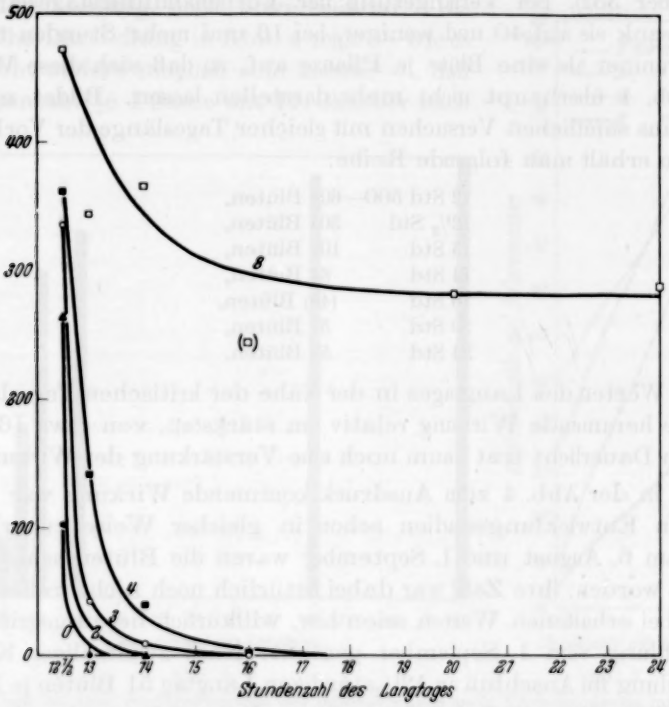


Abb. 4. Mittlere Blütenzahl je Pflanze (0—500, Ordinate) am 11. Oktober in Abhängigkeit von der Anzahl der Kurztage (0—8) und der Stundenzahl des Langtags ($12^1/_2$—24) während der Vorbehandlung.

zum Ausdruck, sondern auch im Grade der Verlaubung der Brakteen. Während nach der Vorbehandlung mit relativ geringer Tageslänge die mit hunderten von Blüten ausgestatteten Infloreszenzen völlig unverlaubte Brakteen hatten (Abb. 5, vordere senkrechte Reihe), waren bei den durch den Langtag gehemmten armblütigen Blütenständen die Brakteen um so stärker verlaubt, je stärker die Hemmung war (von links nach rechts wie von oben nach unten gegen die untere rechte Ecke der Abbildung).

In der oberen Reihe der Abb. 5 handelt es sich um Pflanzen, die alle 8 9stündige Kurztage erhalten hatten. Das linke Exemplar wurde vorher mit 12stündigem Tag behandelt; es blüht sehr reichlich, alle Blüten sind geöffnet. Bei Vorbehandlung mit $12^1/_2$stündigem Tag (rechts anschließendes Bild der oberen Reihe) war bei

dieser langen Kurztaginduktion noch keine sehr starke Hemmung zu bemerken; die Blüten waren aber weniger zahlreich und weniger weit entwickelt. Der 13stündige Tag ergab dann schon eine sehr deutliche Hemmung sowohl in der Zahl der Blüten

Abb. 5. Blütenentwicklung und Brakteenverlaubung in Abhängigkeit von der Tageslänge (12—24 Std) vor der Kurztaginduktion (0—8 Tage).

wie in ihrer Entwicklungsgeschwindigkeit. Die Pflanzen waren auch sehr viel niedriger als die in den ersten beiden Gruppen, weil die Streckung der Infloreszenzstiele noch relativ schwach war; in Abb. 5 kommt das leider nicht sehr stark zum Ausdruck, weil aus Platzersparnisgründen bei den vollentwickelten Blütenständen der untere Teil in der Reproduktion weggeblieben ist. Wesentlich deutlicher tritt

beim rechten Bild der oberen Reihe, das von einem Exemplar stammt, das vor der Kurztagbehandlung Dauerlicht erhalten hatte, die sehr starke Verminderung in der Zahl und im Öffnungszustand der Blüten sowie die noch schwache Streckung der Blütenstandsstiele hervor. Die verabfolgten 8 Kurztagzyklen waren in allen Fällen in ihrer Wirkung noch stark genug, um eine Verlaubung der Brakteen zu unterdrücken.

Anders bei nur zweimaliger Kurztaginduktion (mittlere Querreihe der Abb. 5). Bei voraufgegangenem 12stündigem Tag war zwar, wie nicht anders zu erwarten, volle Blütenstands- und Blütenentwicklung vorhanden. Der $12^1/_2$stündige Vortag rief aber schon eine sehr starke Reduktion in der Blütenzahl hervor und die Brakteen zeigen in der Abbildung eine deutliche Verlängerung und geringe Verbreiterung. Im 13stündigen Tag (3. Bild der mittleren Reihe) liegt dann neben der sehr starken Verminderung der Blütenzahl und Verkürzung der Achsen eindeutige Verlaubung der Brakteen vor, so daß die Infloreszenz ein — wenigstens in der Abbildung — unübersichtliches und kompaktes Knäuel bildet. Nach Vorbehandlung mit Dauerlicht waren dann kaum noch Blüten vorhanden und die Brakteen wiesen sehr starke Verlaubung auf (4. Bild der Reihe).

Ganz besonders stark trat die mit zunehmender Länge des Langtages immer größer werdende Hemmung bei den Kontrollgruppen zutage, die überhaupt keine Kurztagbehandlung während des Versuchs erhalten hatten; sie alle hatten aber infolge der besonderen Verhältnisse bei dem Gesamtmaterial eine gewisse Blühtendenz (untere Reihe der Abb. 5). Erhielten diese Pflanzen als Vorbehandlung 12stündigen Tag, so blühten sie natürlich reichlich, da 12stündiger Tag bei Kalanchoë ja noch blühauslösend wirkt. Schon nach $12^1/_2$stündigem Vortag waren aber die Brakteen stark verlaubt (neben starker Reduktion der Blütenzahl); als Folge des 13stündigen Vortages war die Blütenbildung dann fast unterdrückt bei noch stärkerer Verlaubung der Brakteen, und nach Dauerlicht war das Aussehen der Pflanzen etwa ebenso.

Besprechung.

Aus den vorstehenden Versuchen ergibt sich eindeutig, daß die Intensität der Blütenbildung bei Kalanchoë Bloßfeldiana nicht nur von der Kurztaginduktion abhängt, sondern daß auch die Tageslänge *vor* der Kurztagbehandlung wichtig ist. Je länger diese war, desto stärker wurde die Blütenbildung gehemmt.

Daraus muß gefolgert werden, daß für das Blühen nicht nur solche Vorgänge für die Pflanze von Bedeutung sind, die sich während oder nach (HARDER 1953) der Induktion zur Blütenbildung abspielen, sondern daß auch die Verhältnisse *vor* der Reizung eine Rolle spielen. Offenbar müssen sich im Laubblatt (das ja den Herd für diejenigen stofflichen Vorgänge darstellt, die zum Blühen führen) auch schon *vor* der Kurztaginduktion Stoffe bilden, die bei Belichtungsdauern oberhalb der kritischen Tageslänge der Blütenbildung entgegenarbeiten und auf die später erfolgende Blühinduktion hemmend wirken. Die bekannte hemmende Wirkung des Langtags auf die Blütenbildung beruht also nicht (oder nicht nur) auf einer Reaktion von Langtagstoffen mit bereits vorhandenem „Blühhormon" (oder wie man das Prinzip nennen mag), sondern auch *vor* Vorhandensein von „Blühhormon" müssen sich unter der

Wirkung von Langtag schon Prozesse vollziehen, die die erst später erfolgende Blühinduktion zu stören vermögen. Auch gänzlich ohne Blühimpuls geht also im Langtag schon etwas vor sich, das sich als „Blühhemmstoff" auswirkt.

Welcher Art diese Stoffe sind, bleibt durch die vorstehend geschilderten Versuche natürlich noch völlig ungeklärt; Aufschlüsse in dieser Richtung wurden auch zunächst noch nicht angestrebt.

Ob es sich um die gleichen Stoffe handelt, die die Hemmung des Blühens bewirken, wenn man *während* oder *nach* der Kurztagbehandlung Langtag einwirken läßt, erscheint zweifelhaft. Bei derartigen Versuchen hat sich ja der eigenartige Befund ergeben (Harder, Westphal und Behrens 1949), daß die Hemmung nur dann eintritt, wenn sich der dem Langtag ausgesetzte Teil der Pflanze zwischen dem kurztagexponierten und dem später die Blüten entwickelnden Teil, also dem Vegetationspunkt, befindet. Die Langtagblätter müssen also oberhalb der Kurztagblätter stehen. Wird der Versuch mit einem einzelnen Blatt an der Pflanze gemacht und zwar so, daß dessen endständige und basale Hälfte mit verschiedenen Tageslängen behandelt wird, so muß, wenn eine Hemmung zustandekommen soll, die untere Hälfte in den Langtag und die Spitze in den Kurztag gebracht werden; bei umgekehrter Anordnung bleibt der Langtag ohne hemmenden Einfluß. Aus derartigen Versuchen gewinnt man also den Eindruck, daß primär das „Blühhormon" vorhanden sein muß, das dann sekundär auf seinem Weg vom bildenden Laubblatt zum Gipfel der Pflanze durch den im Langtag gebildeten Stoff mehr oder weniger unwirksam gemacht wird. In den vorstehend geschilderten Versuchen muß ja aber der „Langtagstoff" zeitlich früher als das blütenbildende Prinzip entstanden sein und trotzdem wirkte er später hemmend auf die Blütenbildung. Die Verhältnisse sind also recht verwickelt und noch nicht endgültig geklärt.

Hinzu kommt noch, daß es neben den hemmenden Wirkungen auch noch fördernde gibt. *Verdunklung* der Pflanzen *vor* der Kurztaginduktion wirkt bei *Kalanchoë Bloßfeldiana* blühbegünstigend (Bünsow 1953). Da solche Verdunklungen aber nicht die Blütenbildung an sich auszulösen, sondern nur eine nachträglich erfolgende Kurztaginduktion zu verstärken vermögen, so kann es sich dabei nicht um das „Blühhormon" selbst handeln, sondern nur um einen dessen Wirkung begünstigenden Vorgang. Die Wirkung dauernd verdunkelter Blätter *während* und *nach* der Induktion ist bei *Kalanchoë* noch nicht näher untersucht worden.

Wenn der Langtag in der geschilderten Weise die späteren Reaktionen beeinflußt, dann muß man mit seiner Wirkung aber bei den verschiedensten photoperiodischen Versuchsanstellungen rechnen. Wenn es sich z. B. darum handelt, Stoffe mit nur *geringer* blühfördernder Wirkung nachzuweisen, dann muß man primär eine etwa durch den Aufenthalt

im natürlichen sommerlichen Langtag bereits vorhandene Blühhemmung durch Überführung der Versuchspflanzen in eine möglichst „neutrale" Tageslänge zunächst wieder abklingen lassen, weil diese Hemmung unter Umständen den ganzen blühfördernden Effekt übertönen kann.

Zusammenfassung.

Kalanchoë Bloßfeldiana-Pflanzen wurden *vor* der Kurztaginduktion während 4 Wochen dem Langtag ausgesetzt.

Dadurch entstand eine Hemmung in der Blütenbildung. Sie äußerte sich sowohl im Zeitpunkt des Erscheinens der Infloreszenzen wie in der Anzahl der Blüten und in der Stärke der Verlaubung der Brakteen.

Die Hemmung war um so stärker, je größer die Tageslänge (oberhalb der kritischen Tageslänge) während der Langtagbehandlung war. Ohne Langtagvorbehandlung entstanden an den Pflanzen 500—600 Blüten, durch die Vorbehandlung konnte ihre Zahl auf weniger als 1 je Individuum herabgedrückt werden.

Die bekannte Hemmung der Kurztagpflanzen durch den Langtag greift also nicht (oder nicht nur) an dem bereits an der Pflanze vorhandenen oder gleichzeitig während des Langtageinflusses in Bildung begriffenen blütenbildenden Prinzip („Blühhormon") an, sondern es muß sich um einen unabhängig davon entstehenden Komplex handeln, der in der Pflanze auch dann gebildet wird, wenn überhaupt noch keine Blühinduktion vorhanden ist.

Literatur.

Bünning, E.: Entwicklungs- und Bewegungsphysiologie der Pflanze, 3. Aufl. Berlin-Göttingen-Heidelberg 1953. — Bünsow, R.: Über tages- und jahresrhythmische Änderungen der photoperiodischen Lichtempfindlichkeit bei Kalanchoë. Zeitschr. f. Bot. **41**, 257 (1953). — Harder, R.: Über den Einfluß der Tageslänge nach der photoperiodischen Induktion auf die Infloreszenzen von Kalanchoë Bloßfeldiana. Planta (Berl.) **42**, 19 (1953). — Harder, R., M. Westphal u. G. Behrens: Hemmung der Infloreszenzbildung durch Langtag bei der Kurztagpflanze Kalanchoë Bloßfeldiana. Planta (Berl.) **36**, 424 (1949).

Planta, Bd. 43, S. 325—360 (1954).

Aus dem Botanischen Institut der Universität Heidelberg.

ÜBER DAS VORKOMMEN UND DIE HISTOGENESE VON SCHEITELGRUBEN BEI KRAUTIGEN DIKOTYLEN, MIT BESONDERER BERÜCKSICHTIGUNG DER GANZ- UND HALBROSETTENPFLANZEN.

Von

WERNER RAUH und FRITZ RAPPERT.

Mit 22 Textabbildungen.

(Eingegangen am 26. November 1953.)

Einleitung.

Die seit einigen Jahren durchgeführten Untersuchungen über das Erstarkungswachstum krautiger Dikotylen (TROLL und RAUH 1950; RAUH und REZNIK 1951; 1953) erbrachten unter anderem das wichtige Ergebnis, daß dem primären Dickenwachstum[1] bei krautigen Dikotylen eine viel größere Bedeutung zukommt, als bisher allgemein angenommen, und daß zwischen der Internodienlänge und dem Ausmaß des Erstarkungswachstums enge Beziehungen bestehen (s. TROLL und RAUH 1950, S. 80ff.). Sie äußern sich in der Weise, daß im Bereich gestauchter Achsenabschnitte das dem Erstarkungswachstum zugrunde liegende pDW seine größte Intensität und somit die Sproßachse ihren größten Durchmesser erreicht. Schon 1950 konnten TROLL und RAUH beobachten, daß extreme Internodienstauchung, wie sie bei der Ganzrosettenpflanze *Plantago* vorliegt, in Verbindung mit gesteigertem pDW die Ausbildung von ± tiefen Scheitelgruben zur Folge hat. In Übereinstimmung mit vielen Monokotylen, für die bislang allein innerhalb der Gruppe der Angiospermen solche bekannt waren, wird der eigentliche Vegetationspunkt in eine kraterförmige Vertiefung verlagert. Diese Beobachtung veranlaßte uns, das Erstarkungswachstum speziell von Ganz- und Halbrosettenpflanzen, soweit uns diese zur Verfügung standen, einer gesonderten Untersuchung zu unterziehen, denn auf Grund unserer früheren Arbeiten war zu erwarten, daß Scheitelgruben auch bei Dikotylen eine weitere Verbreitung haben würden, eine Vermutung, die denn auch durch die vorliegende Untersuchung bestätigt wurde. Dieser lag vor allem die Klärung der folgenden Fragen zugrunde:

1. Führt Rosettenwuchs bzw. Hemmung der Internodienentwicklung in Verbindung mit gesteigertem pDW stets zur Bildung von Scheitelgruben?

[1] Wird künftig als pDW abgekürzt.

2. Welche histogenetischen Prozesse liegen der Scheitelgrubenbildung zugrunde, falls solche auftritt?

3. Lassen sich die hierbei auftretenden primären Verdickungsprozesse in die von TROLL und RAUH gegebene Übersicht einordnen?

Weiterhin sollten die Untersuchungen dazu dienen, unsere in früheren Arbeiten (RAUH und REZNIK 1953) geäußerten Anschauungen über den Formwechsel und die Zonierung des Scheitelmeristems bei Dikotylen zu unterbauen und eventuell zu erweitern. Es wurde deshalb wiederum großer Wert darauf gelegt, den Ablauf der histogenetischen Prozesse nach Möglichkeit von der Keimung bis zum Eintritt in die florale Phase lückenlos zu verfolgen.

Erläuterungen der im speziellen Teil verwendeten Abkürzungen.

VP Vegetationspunkt; VK Vegetationskegel; pDW primäres Dickenwachstum; sDW sekundäres Dickenwachstum; EW Erstarkungswachstum. (Eine genaue Definition dieser Begriffe findet sich bei TROLL und RAUH 1950.) MMZ Markmutterzellkomplex; FLM Flankenmeristem. (Über die Zonierung des Sproß-Scheitelmeristems bei Dikotylen s. RAUH und REZNIK 1953 und die dort aufgeführte Literatur.)

Bemerkungen zu den Abbildungen: Um unnötige Wiederholungen im Abbildungstext zu vermeiden, bedeuten

a) in den Übersichtszeichnungen: *Längsschraffur:* Procambienstränge und sekundärer cambialer Zuwachs; *punktiert:* Blattprimordien; *doppelt schraffiert:* Scheitelmeristem, als VP bezeichnet.

Um die Übersichtlichkeit der Übersichtszeichnungen zu wahren, sind halbschematisch nur die antiklinal erfolgenden Zellteilungen, indessen *nicht* die Periklinen eingetragen.

b) in den Gewebezeichnungen: *längs schraffiert:* angeschnittene Procambienstränge; *punktiert:* Zellen des Flankenmeristems bzw. der Blattprimordien; *mit Kernen versehene Zellen:* Markmutterzellkomplex.

Untersuchungsobjekte.

1. Ganzrosettenpflanzen.

Unter Ganzrosettenpflanzen verstehen wir solche, die nur in der vegetativen Phase normale Laubblätter hervorbringen, die sämtlich in einer grundständigen, meist dem Boden aufliegenden Rosette angeordnet sind. Der florale Abschnitt hingegen beginnt mit einem verlängerten, laubblattlosen, als Schaft bezeichneten Internodium, das nur in der Blütenregion Hochblätter trägt. Im Gegensatz zu den Halbrosetten fehlen also die laubigen Stengelblätter und somit auch die Übergangsformen zwischen Rosetten- und Hochblättern. Je nach der Stellung der Blüten bzw. Inflorescenzen ist zwischen Ganzrosettenpflanzen mit *begrenzter* und solchen mit *unbegrenzter* Primärachse zu unterscheiden. Bei den ersteren geht der VP der Primärachse in der Bildung einer Blüte bzw. Inflorescenz auf, während diese bei den letzteren eine seitliche Stellung einnehmen und der VP somit theoretisch unbegrenzt

fortwachsen kann. Für beide Wuchstypen sollen im folgenden einige Beispiele ausführlicher abgehandelt werden.

a) Ganzrosettenpflanzen mit begrenzter Primärachse.

Taraxacum officinale Web. Als lehrreiches Beispiel im Hinblick auf unsere spezielle Fragestellung erweist sich der Gemeine Löwenzahn, dessen Primärachse bei normalem Wachstum in der vegetativen Phase keinerlei Internodienverlängerung erfährt und bei einer Dicke bis zu 2 cm eine maximale Länge von 0,5 cm erreicht. Basalwärts geht die Rosettenachse kontinuierlich in eine rübenförmige Primärwurzel über. Die Grenze zwischen beiden ist an den Narben abgestorbener Rosettenblätter kenntlich. Wenn äußerlich ein EW kaum oder nur wenig in Erscheinung tritt, so allein deshalb, weil dieses sich nur auf die Rosettenregion beschränkt und durch sDW im Bereich des „Wurzelhalses" teilweise „maskiert" wird. Erst mediane Längsschnitte durch die Rosettenachse und den Wurzelhals lassen erkennen, daß sich der Markkörper spitzenwärts nicht unwesentlich erweitert und dabei eine verkehrtkegelförmige Gestalt annimmt (Abb. 1, *II*, *IV*; Abb. 5, *I*), eine Erscheinung, die schon an jungen Keimpflanzen zu beobachten ist (Abb. 1, *Ia—Ib*). In Übereinstimmung mit anderen von Troll und Rauh untersuchten krautigen Dikotylen besitzt also auch *Taraxacum* ein kräftiges EW, und zwar ein solches mit teilweiser Maskierung. Wie bei den meisten Dikotylen liegt diesem die *medulläre* Form des parenchymalen pDW zugrunde, d. h. die primären Verdickungsprozesse spielen sich vorwiegend im Markkörper ab (Abb. 1, *I—V*).

Aber noch eine weitere interessante Eigentümlichkeit weisen mediane Längsschnitte auf: der VP ist in eine kraterförmige Vertiefung verlagert. Da bereits die jeweils jüngsten Primordien oberhalb des flachen Scheitels inseriert (Abb. 1, *IV*) sind und die älteren mit zunehmender Entfernung vom VP immer höher oberhalb desselben ansetzen, entsteht wie bei den Palmen eine ausgeprägte Scheitelgrube. Nur tritt diese makroskopisch nicht in Erscheinung, da die Sproßachse von *Taraxacum* im Vergleich zu den mächtigen Palmenstämmen nur geringe Ausmaße erreicht.

Unsere Aufgabe ist es nun, zu untersuchen, welche histogenetischen Prozesse der Bildung der Scheitelgrube zugrunde liegen. Wir haben dabei zwei Erscheinungen unser besonderes Augenmerk zu widmen: α) dem Verhalten des VP im Verlauf des Achsenentwicklung und β) den primären Verdickungsvorgängen.

α) *Bau und Erstarkung des VP.* Ein Längsschnitt durch den Scheitel einer Keimpflanze, die außer den beiden Kotyledonen nur noch ein Primärblatt entwickelt hat, ist in Abb. 2, *I* wiedergegeben. Abweichend

von den meisten Dikotylen verhält sich der VP, der nicht einen kuppelförmig aufgewölbten Höcker darstellt, sondern im Gegenteil leicht konkav eingetieft ist. Hierin herrscht Ähnlichkeit mit den Scheitelmeristemen der von RAUH und REZNIK (1953) beschriebenen Keimpflanzen von *Helianthus annuus*, *Zinnia*, *Rudbeckia* und *Tagetes* (s. die dort beigegebenen Abb. 5, 6, 10, 15, 20). Während sich bei diesen

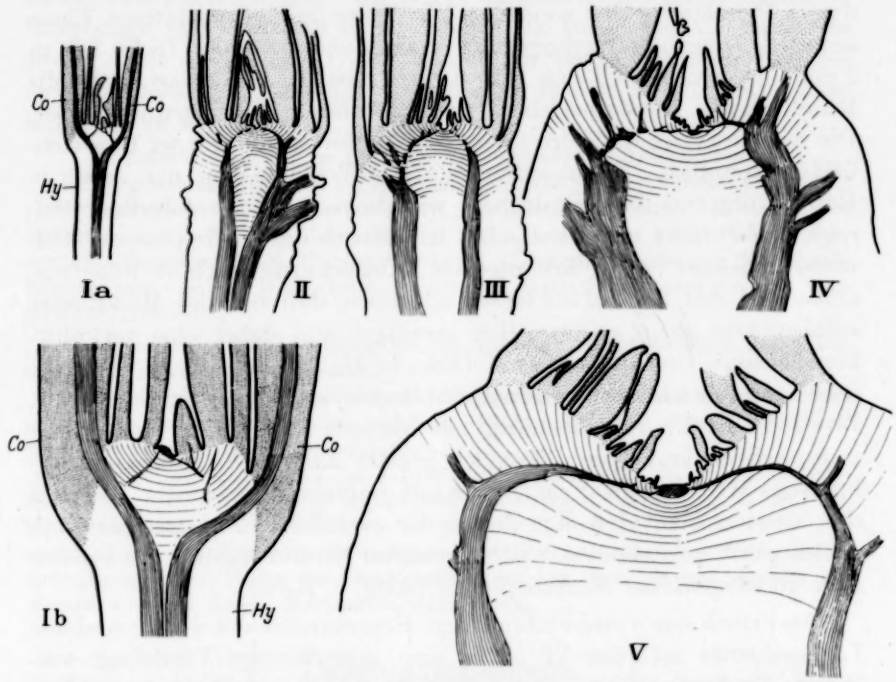


Abb. 1. *Taraxacum officinale*. Längsschnitte durch die Scheitelregion verschieden alter Pflanzen. *Ia* Keimpflanze, *Ib* dieselbe vergrößert; *Co* Kotyledonen, *Hy* Hypokotyl; *II—III* 2- und 3jährige Rosetten; *IV* 4jährige Rosette; *V* mehrjährige Rosette kurz vor dem Eintritt in die florale Phase (*Ia, II—V* etwa 10-, *Ib* etwa 40fach vergr.).

Pflanzen der VP mit einsetzender Erstarkung kuppelförmig aufwölbt, behält er bei *Taraxacum*, wie auch bei der später zu behandelnden *Plantago*, seine konkav eingetiefte Form bis zur Ausgliederung der Infloreszenzen bei (Abb. 2 und 3). Wir haben diesen Typus von Vegetationspunkten schon früher als „Konkavtypus" bezeichnet[1].

Das Meristem selbst ist von geringer Ausdehnung und „Tiefe" und wird von einer einschichtigen, auf dem Medianschnitt 12 Zellen breiten

[1] Für diesen Typus von Vegetationspunkten, der eine weitere Verbreitung zu haben scheint, kann die von SÁRKÁNY (1936) getroffene Unterscheidung in „Vegetationskegel" und „Vegetationspunkt" keine Anwendung finden. Wir schlagen deshalb vor, für derart flache Vegetationspunkte den Ausdruck „Vegetationsscheitel" zu gebrauchen.

Tunica überdeckt. In deren Zentrum heben sich 2 Zellen durch ihre stark vacuolisierten Kerne von den übrigen ab. Sie sind wohl als Zentralzellen[1] zu deuten (Abb. 2, *I ZZ*). Der aus unregelmäßig angeordneten Zellen bestehende Markmutterzellkomplex erstreckt sich 3 Zellreihen tief; in der 4. Zellschicht bilden sich die MMZ zum Markzellenmeristem um, das sich in lebhafter Teilungstätigkeit befindet und

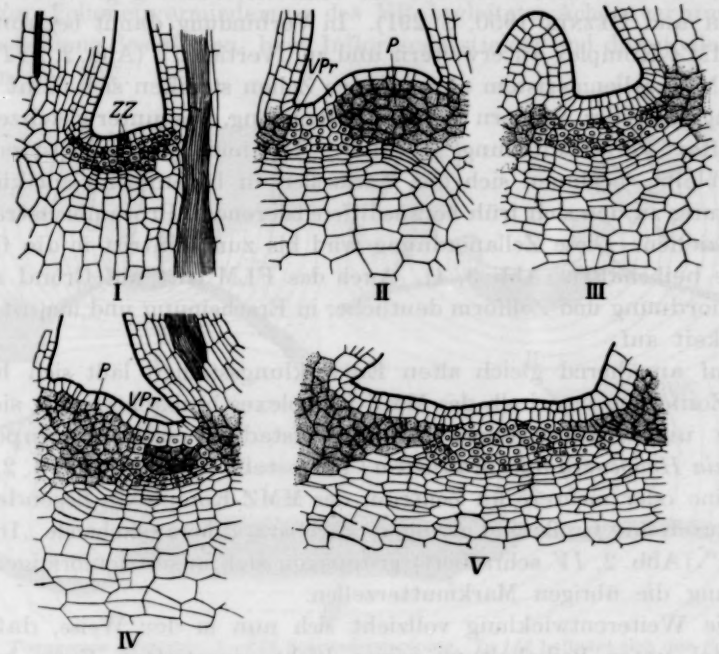


Abb. 2. *Taraxacum officinale.* Medianschnitte durch den Scheitel verschieden alter Pflanzen. *I* Keimpflanze; *II* 1jährige Pflanze mit 4 entwickelten Laubblättern; *III—IV* Pflanzen mit 2 mm dicker; *V* mit 5 mm dicker Rosettenachse. In *II* und *IV* befindet sich der Scheitel im Zustand der Primordienausgliederung; *P* Primordiengewebe; *VPr* Scheitelrest (etwa 240fach).

die in Periklinen angeordneten Markzellen abgibt (Abb. 2, *I*). Diese strecken sich unter Vacuolisierung sofort in longitudinaler Richtung — ein Vorgang der zur Verlängerung des Hypokotyls führt. Ein Flankenmeristem ist in Übereinstimmung mit unseren früheren Beobachtungen an Keimpflanzen (Rauh und Reznik 1953) nur schwer abzugrenzen.

Medianschnitte durch die Scheitel älterer Keimpflanzen, die bereits eine flache Scheitelgrube aufweisen (Abb. 1, *I*) sind in Abb. 2, *II—III* wiedergegeben. In Fig. *II* befindet sich der Scheitel gerade im Zustand der Primordienausgliederung. Hierbei wird, wie auch später, solange der Scheitel noch ein geringes Volumen aufweist, stets ein großer Teil

[1] Siehe Rauh und Reznik 1953.

desselben aufgebraucht (Abb. 2, *II*, *IV*). Zwischen den einzelnen Plastochronen aber erfährt dieser eine Restauration, wobei das Scheitelmeristem jedesmal zu seiner alten Form zurückkehrt. Im Vergleich zu Fig. *I* weisen die Stadien *II* und *III* folgende Veränderungen auf: die Zahl der Tunicaschichten, deren Zellen ein größeres Volumen besitzen, hat sich auf 2 erhöht (Abb. 2, *III*), eine Erscheinung, die von uns schon früher als sichtbarer Ausdruck der Scheitelerstarkung gewertet wurde (RAUH und REZNIK 1950, S. 291). In Verbindung damit beginnt sich der MMZ-Komplex zu erweitern und zu „vertiefen" (Abb. 2, *III*); die vom Markzellenmeristem abgegebenen Zellen strecken sich nicht mehr in longitudinaler, sondern in *radialer* Richtung, was unter gleichzeitiger lebhafter Periklinalteilung geschieht. Da nun Internodienstreckung unterbleibt, beginnen sich die Markzellen in bogenförmig-antiklinaler Richtung zu den sich früh herausdifferenzierenden Procambiensträngen hinzuziehen. Diese Zellanordnung wird bis zum Eintritt in die florale Phase beibehalten (Abb. 3, 4). Auch das FLM tritt auf Grund seiner Zellanordnung und Zellform deutlicher in Erscheinung und nimmt seine Tätigkeit auf.

Auf annähernd gleich alten Entwicklungsstadien läßt sich häufig eine Zonierung innerhalb des MMZ-Komplexes beobachten, wie sie von RAUH und REZNIK schon für Jugendstadien anderer Kompositen *(Zinnia Haageanea* und *Matricaria)* festgestellt worden ist (Abb. 2, *IV*): um eine oder mehrere im Zentrum des MMZ-Komplexes liegende und sich durch ihre Größe und geringere Färbbarkeit heraushebende „Initialzellen" (Abb. 2, *IV* schraffiert) gruppieren sich in schalenförmiger Anordnung die übrigen Markmutterzellen.

Die Weiterentwicklung vollzieht sich nun in der Weise, daß der Scheitel unter Beibehaltung seiner leicht eingetieften Form kräftig erstarkt und dabei sein Volumen vergrößert, wie durch den Vergleich von Fig. *I* und *V* in Abb. 2 bzw. *I* und *III* in Abb. 3 klar zum Ausdruck kommt. Diese Erstarkung beruht im wesentlichen auf einer Ausweitung des MMZ-Bereiches, der die Tunica durch Antiklinalteilungen folgt. Die sich früh herausdifferenzierenden Procambienstränge werden dadurch schon auf der Höhe des Scheitels stark nach außen gebogen (Abb. 3, *III*). Ein mit der Erstarkung des Scheitels auffällig verbundener Formwechsel (= Erstarkungsformwechsel), wie er für viele andere Dikotyle nachzuweisen ist, läßt sich bei *Taraxacum* nicht feststellen. Die Zonierung des Scheitelmeristems bleibt indessen auch weiterhin erhalten (Abb. 2, *V*), nur stellt das Markzellenmeristem nach Abschluß des vegetativen Wachstums seine Tätigkeit vorübergehend ein. Mit dem Eintritt in die florale Phase, die an einer leicht sockelförmigen Erhebung des gesamten Scheitelmeristems kenntlich ist (Abb. 3, *III*), erfolgt eine Reduktion der Zahl der Tunicaschichten von 2 auf 1, denn in der T2

treten jetzt häufig Periklinalteilungen auf. Die einschichtige Tunica ist auch weiterhin für die Inflorescenzprimordien charakteristisch. Diese Feststellung liefert einen neuen Beweis für die schon an anderer Stelle (Rauh und Reznik 1953, S. 292) geäußerte Anschauung, daß *die Zahl der Tunicaschichten in enger Abhängigkeit zum EW* zu stehen scheint, denn mit dem Eintritt in die reproduktive Phase erfolgt in der Regel eine von Volumenverminderung des VP begleitete Achsenverjüngung (= Ausbildung des Blüten- bzw. Inflorescerzstieles) und damit ein Abklingen des EW.

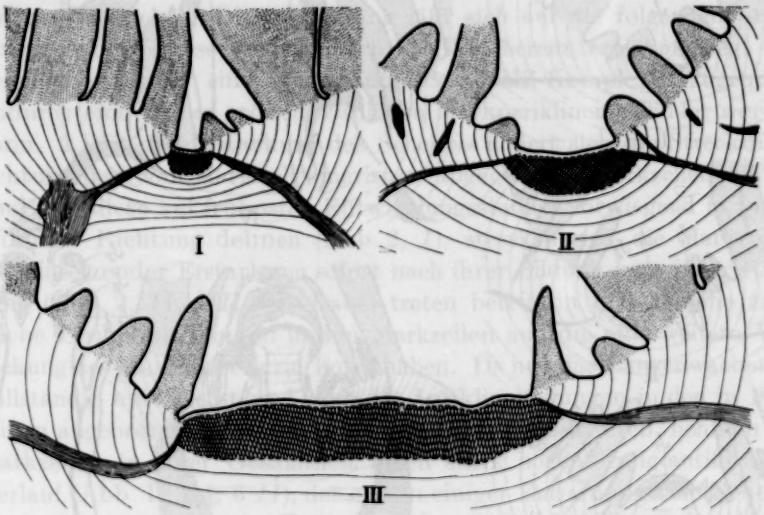


Abb. 3. *Taraxacum officinale*. *I—III* Scheitelerstarkung. In *III* befindet sich der Scheitel kurz vor dem Eintritt in die florale Phase (etwa 40fach).

Erlangt *Taraxacum* die Blühreife, wozu je nach Ernährungsbedingungen 2 bis mehrere Jahre benötigt werden, so geht das gesamte Scheitelmeristem in der Bildung einer rispigen Inflorescenz[1] auf (Abb. 4), wobei das terminale Köpfchen den achselständigen in der Entwicklung vorauseilt. Der Scheitel beginnt sich kuppelförmig aufzuwölben und wird zur Anlage des terminalen Köpfchens (Abb. 4, *I J1*). Jetzt entfaltet auch das Markzellenmeristem wieder eine lebhaftere Tätigkeit.

[1] Der Gesamtblütenstand von *Taraxacum* ist eine *Rispe*, deren Achse normalerweise völlig unterdrückt ist, so daß die einzelnen Köpfchen ± auf gleicher Höhe nebeneinander stehen. Es entwickelt sich zunächst das terminale Köpfchen der Gesamtinflorescenz; die achselständigen gelangen in basipetaler Folge zum Aufblühen. An Kümmerformen kommt oft nur das terminale Köpfchen zur Entwicklung. Verdunkelt man zur Blüte schreitende *Taraxacum*-Rosetten, so setzt eine Streckung der Inflorescenzachse ein, so daß erst jetzt der wahre Charakter der Inflorescenz zutage tritt (s. auch S. 335 und Abb. 4, *VI*).

Da die gebildeten Markzellen sich im Vergleich zur vegetativen Phase nicht in radialer, sondern in longitudinaler Richtung strecken, kommt es zu einer säulenförmigen Verlängerung des Inflorescenzprimordiums (Abb. 4, *II J1*), dessen Scheitel sich mit erneuter Erstarkung (= Bildung des Köpfchenbodens) abzuflachen beginnt (Abb. 4, *III*). Auf diesem Entwicklungsstadium werden auch die Anlagen der achselständigen Köpfchen sichtbar (Abb. 4, *II*, *IV J2*); sie befinden sich

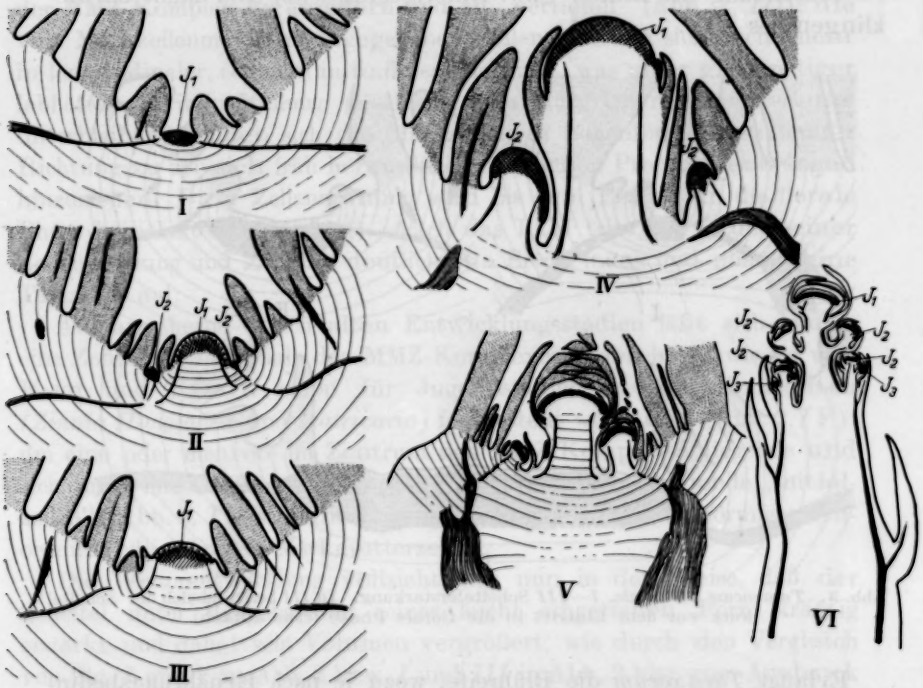


Abb. 4. *Taraxacum officinale*. *I*—*V* Inflorescenzentwicklung. J_1 Anlage des terminalen Köpfchens; J_2 bzw. J_3 Anlagen achselständiger Köpfchen; *VI* Inflorescenzanlage einer 14 Tage lang verdunkelten Pflanze. (*I*—*IV* etwa 40-, *V* 10-, *VI* 3fach.)

noch auf dem „Pflockstadium", wenn das terminale Köpfchen bereits zur Ausgliederung der Involucralblätter und Blütenprimordien schreitet (Abb. 4, *IV*). Die Köpfchenhistogenese selbst verläuft in der von RAUH und REZNIK (1953) für andere Kompositen beschriebenen Weise, so daß auf die dort gegebene Darstellung verwiesen werden kann.

Da nun eine Streckung auch der Rispenachse unterbleibt, entspringen die Köpfchen alle auf gleicher Höhe. Sie sind anfangs noch in eine tiefe Scheitelgrube verlagert (Abb. 4, *IV*—*V*), die indessen mit einsetzender Verdickung der Inflorescenzschäfte mehr und mehr „eingeebnet" wird.

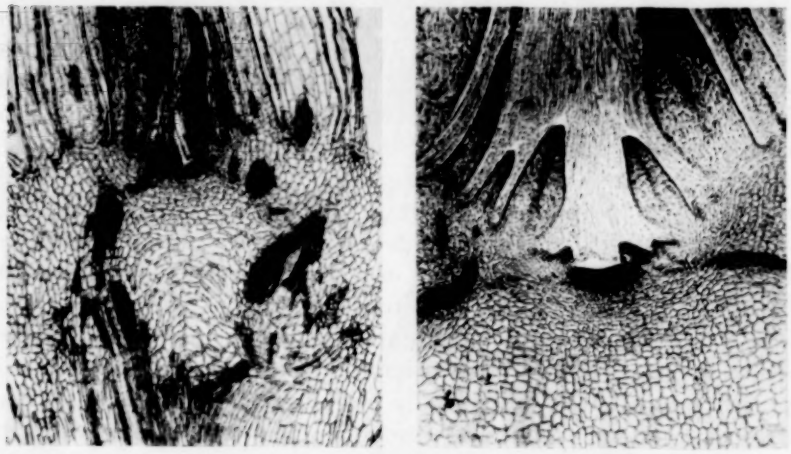
Nach der Fruchtreife stirbt die Inflorescenz ab und Achselknospen der Rosettenblätter übernehmen die Fortführung des Sproßsystems, wodurch die „mehrköpfigen Wurzelstöcke" (Hegi, Bd. VI/2, S. 1085) zustande kommen.

β) Die primären Verdickungsprozesse. Der Erstarkung des Scheitels läuft, wie schon eingangs angedeutet, ein kräftiges pDW einher, das sich in Scheitelnähe, und zwar vorwiegend im Markkörper vollzieht, wodurch dieser eine verkehrt-kegelförmige Gestalt annimmt. Wie aus Abb. 1, *I—V* und Abb. 5, *I—II* zu ersehen ist, vergrößert der Markkörper im Verlauf des vegetativen Wachstums seinen Durchmesser um ein Vielfaches. Dieser Vorgang läßt sich auf die folgenden histogenetischen Prozesse zurückführen: 1. Wie bereits erwähnt, liegt der Scheitelerstarkung eine Ausweitung des MMZ-Komplexes zugrunde, wodurch eine immer größere Zahl von Markperiklinen gebildet werden kann. 2. Mit der Erstarkung des Scheitels ändert sich die Streckungsrichtung der vom Markzellenmeristem abgegebenen Markzellen. Während sich diese auf frühesten Entwicklungsstadien vorwiegend in longitudinaler Richtung dehnen (Abb. 2, *I*), strecken sich die Markzellen mit einsetzender Erstarkung sofort nach ihrer Bildung in radialer Richtung (Abb. 2, *II*, *III*, *V*). Dabei treten bereits in Scheitelnähe zahlreiche Periklinalteilungen in den Markzellen auf, die eine weitere Verdickung des Markkörpers zur Folge haben. Da nun das Längenwachstum vollständig unterbleibt und auch die Antiklinalteilungen in den in Periklinen angeordneten Markzellen sehr regelmäßig auftreten, nehmen die Markzellen in ihrer Gesamtheit einen stark bogenförmig-antiklinalen Verlauf (Abb. 1, 3, 4, 5 *II*), der erst in einiger Entfernung vom Scheitel wieder ausgeglichen wird (Abb. 1, *III* und *V*). Infolge starker Intercellularenbildung und Degeneration des Markes geht in den rückwärtigen Markpartien die regelmäßige Zellanordnung bald verloren. Der bogenförmig-antiklinale Zellverlauf in Verbindung mit der starken Ausweitung des Markkörpers bewirkt schon in Scheitelnähe ein starkes Ausbiegen der auf dem Längsschnitt sichtbaren Procambienstränge (Abb. 1, *IV* bis *V*).

Wenngleich nun auch die mächtige Erweiterung des Markes, d. h. medulläres pDW, die Voraussetzung zur Bildung der im Verlauf des Dickenwachstums sich mehr und mehr vertiefenden Scheitelgruben liefert, so führt dieser Prozeß allein nicht zur kraterförmigen Vertiefung. Das geht schon aus der Untersuchung von Keimpflanzen hervor (Abb. 1, *Ia* u. *b*). Obwohl bei diesen der Markkörper nur wenige Zellreihen breit ist, wird schon auf diesem Stadium die Bildung der Scheitelgruben eingeleitet (Abb. 5, *I*). Hieran beteiligt sich nicht unwesentlich die primäre Rinde, also corticales pDW. Wie die Abb. 1, *I—V* erkennen läßt, erfolgt im Verlauf des EW ein beachtenswertes Dickenwachstum

der Rinde, wenn dieses auch nicht die Beträge des medullären pDW erreicht.

Das corticale pDW vollzieht sich in gleicher Weise wie das medulläre und beruht auf Periklinalteilungen, die sich in Scheitelnähe in den vom Flankenmeristem gebildeten Rindenzellen abspielen. Diese selbst weisen in ihrer Gesamtheit eine sehr regelmäßige Anordnung auf: in Periklinen ziehen sie parallel zu den Procambiensträngen basalwärts. Da nun auch die Antiklinalteilungen mit großer Regelmäßigkeit auftreten, entstehen ähnlich wie im Markkörper steil aufgerichtete, bogen-



I *II*

Abb. 5. *Taraxacum officinale*. *I* Längsschnitt durch die Rosettenachse einer 8 Wochen alten Keimpflanze; *II* Scheitelgrube einer verdunkelten Rosette (etwa 45fach).

förmig zu den Blattbasen hinziehende Antiklinalreihen (Abb. 1, 3, 4, 5). Erst diese Zellenordnung bewirkt ein Emporheben der Primordien über den Scheitel hinaus, der nun mit zunehmender Rindenverdickung in eine sich immer mehr vertiefende Grube verlagert wird. Nur in Verbindung mit gesteigertem corticalem pDW führt das medulläre pDW bei *Taraxacum* zur Scheitelgrubenbildung.

In der „bogenförmig-antiklinalen" Anordnung, sowohl der Mark- als auch der Rindenzellen, herrscht auffällige Übereinstimmung mit den von HELM (1936) und ECKARDT (1941) beschriebenen Verhältnissen bei Palmen. Während bei diesen aber die bogenförmig-antiklinal zu den Blattbasen hinziehenden Zellzüge ihre Entstehung der auswärts gerichteten Tätigkeit des primären Meristemmantels verdanken, also von einem Cambium (= cambiale Form des pDW) gebildet werden, sind sie bei *Taraxacum* das Resultat ± regelmäßig vonstatten gehender Periklinalteilungen in Mark und Rinde (= parenchymale Form des pDW). Den größten Durchmesser hat die Sproßachse von *Taraxacum* deshalb

auch nicht auf der Höhe des Scheitels selbst, sondern oberhalb desselben. Sekundäres, cambiales DW erfolgt in geringem Maße nur in scheitelfernen Abschnitten der Rosettenachse, wodurch die primären Verdickungsvorgänge wenigstens teilweise maskiert werden.

Zusammenfassend stellen wir fest, daß die Scheitelgrubenbildung von *Taraxacum* ausschließlich das Resultat primärer, von Scheitelerstarkung begleiteter Verdickungsprozesse ist und sich hieran sowohl medulläres als auch corticales pDW beteiligen. Erst auf fortgeschrittenen Stadien der Inflorescenzausgliederung gehen die Scheitelgruben verloren.

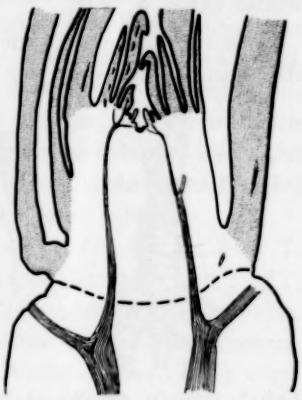


Abb. 6. *Taraxacum officinale.* Längsschnitt durch die Achse einer 8 Tage lang verdunkelten Pflanze. Die gestrichelte Linie kennzeichnet den Beginn des Streckungswachstums (etwa 10fach).

γ) *Histogenetische Untersuchungen an den Scheiteln verdunkelter Rosettensprosse.* Nach Wiesner (1891) gehört *Taraxacum* zu jenen Rosettenpflanzen, die durch Etiolement zur Bildung verlängerter Stengelglieder und damit zur Auflösung der Rosette gezwungen werden können. „Sowie die Sprosse das Licht erreichen, wird die Bildung entwickelter Stengelglieder aufgehoben und es kommt zur Ausbildung einer Rosette. Überdeckt man aber den gerade das Licht erreichenden Sproß mit Erde, so beginnt alsbald wieder die Ausbildung entwickelter Internodien (Wiesner, S. 50/51). Die Versuche Wiesners wurden wiederholt, um nachzuprüfen, ob 1. die Scheitelgruben an verdunkelten Sprossen auch weiterhin erhalten bleiben und 2. inwieweit die Architektonik des Scheitels selbst durch den Verdunklungsprozeß Umgestaltungen erfährt. Zu diesem Zweck wurden kräftige, sich in lebhaftem Wachstum befindende Rosetten mit Konservendosen überdeckt und die Vegetationspunkte nach 8—14 Tagen Verdunklung herausgeschnitten und fixiert. Schon nach 8 Tagen hat die Rosettenachse eine Länge von 0,5 cm (Abb. 6) und nach 14 Tagen eine solche von 2 cm erreicht. Sie besteht aus rein primären Geweben, aus den in Periklinen angeordneten Mark- und Rindenzellen; die Tätigkeit des Cambiums beschränkt sich allein auf die Ausbildung der Leitungsbahnen. Die Internodienverlängerung beruht auf einer stark longitudinal gerichteten Streckung der Mark- und Rindenzellen, die sofort nach der Verdunklung einsetzt. Als Folge davon tritt ein auffälliger Unterschied in der Zellform und -größe zwischen der Licht- und der Dunkelphase ein. Das überraschendste Ergebnis der Verdunklungsversuche ist jedoch, daß nicht nur der Scheitel seine abgeflachte, leicht konkave Form und Zonierung beibehält (Abb. 6, 5, *II*), sondern auch die Scheitelgrube, wenn auch ver-

flacht, weiterhin erhalten bleibt und die rosettig beieinanderstehenden Primordien, die jetzt infolge Lichtmangels als Schuppenblätter ausgebildet sind, demzufolge oberhalb des Scheitels inseriert sind (Abb. 6, 5, *II*). Dadurch, daß sofort nach Eintritt der Verdunklung die sich noch im halbmeristematischen Zustand befindenden Mark- und Rindenzellen unterhalb des Scheitelmeristems sich stark zu strecken beginnen, wird die gesamte Scheitelgrube emporgehoben. Sie verschwindet erst zur Zeit der Inflorescenzbildung infolge Streckung der Inflorescenzachse (Abb. 4, *VI*).

An verdunkelten, zur Blüte schreitenden Rosetten tritt nun auch der wahre Charakter der *Taraxacum*-Inflorescenz in Erscheinung. Mit

Abb. 7. *Primula Auricula*. *I* Rosettenachse einer älteren Pflanze (Blätter abpräpariert) mit der terminalen Inflorescenz *J* und der Fortsetzungsknospe *ak*; *II*—*III* Längsschnitte einer jüngeren und älteren Pflanze. (*II*—*III* etwa 10fach.)

der Ausbildung einer verlängerten Inflorescenzachse rücken die einzelnen, sich in basipetaler Richtung ausdifferenzierenden Köpfchenprimordien auseinander und lassen eine rispige Anordnung erkennen (Abb. 4, *VI J1*—*J3*).

Viel klarer und übersichtlicher als an unverdunkelten Achsen ist die Zonierung des Scheitelmeristems selbst: Die vom Markzellenmeristem abgegebenen Markzellen strecken sich zunächst in radialer, bald aber auch in longitudinaler Richtung (Abb. 5, *II*); die spindelförmigen Zellen des FLM, die schräg zu den sich früh herausdifferenzierenden Procambiensträngen hinziehen, heben sich deutlich von den ungeordneten Zellen des MMZ-Komplexes ab.

Abschließend ist festzustellen, daß in histologischer Hinsicht zwischen verdunkelten und normal gewachsenen *Taraxacum*-Achsen keine grundsätzlichen Unterschiede bestehen, abgesehen davon, daß die Scheitelgruben in flacherer Ausbildung entgegentreten.

Primula Auricula L. Von den untersuchten rosettenbildenden *Primula*-Arten konnte für die Aurikel die Bildung flacher Scheitelgruben nachgewiesen werden; allerdings treten diese erst an alten Rosettenachsen in Erscheinung (Abb. 7, *III*), während jüngere solche

noch nicht aufweisen (Abb. 7, *II*). Daß auch die Achsen der Aurikel kräftiges EW besitzen, läßt sich nach Entfernung der Rosettenblätter schon makroskopisch an dem spitzenwärts zunehmenden Achsendurchmesser (Abb. 7, *I*) deutlich beobachten. Auf Längsschnitten ist es indessen zunächst schwierig, festzustellen, welche Form des pDW dem EW zugrunde liegt, da infolge der unregelmäßigen Anordnung der Bündel eine scharfe Sonderung des Gewebes in Mark und Rinde nicht eintritt. Erst wenig unterhalb des VP geführte Querschnitte klären die Gewebeverteilung: um den im Vergleich zur Gesamtdicke der Sproßachse verhältnismäßig dünnen Markkörper gruppiert sich ein Ring von Bündeln, der jenen von der Rinde abgrenzt. Die Sproßachse scheint demnach größtenteils aus Rindengewebe zu bestehen. Querschnitte, die in größerer Entfernung vom VP geführt werden, zeigen auch im Zentrum der Achse eine völlig regellose Bündelverteilung, die wohl dadurch zustande kommt, daß infolge Ausbildung medullärer Bündel die Sonderung in Mark und Rinde wieder verloren geht[1].

Über den Verlauf des EW orientieren die Fig. *II—III* in Abb. 7. Der durch eine jüngere Rosettenachse geführte Schnitt (Abb. 7, *II*) zeigt, daß diese schon wenig unterhalb des VK ihre größte Dicke erreicht. Der VP selbst stellt einen nur wenig aufgewölbten, von einer Tunicaschicht überdeckten Höcker dar, der in klarer Weise die bereits für viele Dikotyle bekannte Zonierung in MMZ-Komplex, Markzellen- und Flankenmeristem erkennen läßt (Abb. 8, *I*). Die anfangs regelmäßige Anordnung der Mark- und Rindenzellperiklinen geht durch Intercellularenbildung in den rückwärtigen Achsenpartien bald verloren.

Die Weiterentwicklung ist durch eine kräftige Erstarkung des VP gekennzeichnet, wobei sich dieser stark abflacht (Abb. 8, *II*), um mit dem Eintritt in die reproduktive Phase eine schlank-kegelförmige Form anzunehmen (Abb. 8, *III*). Damit verbunden ist eine rasche Dickenabnahme der Achse, die zur Bildung des Inflorescenzschaftes führt. Der VP von *P. Auricula* weist also im Gegensatz zu dem von *Taraxacum* einen ausgeprägten Erstarkungsformwechsel auf.

[1] Über die Bündelverteilung in der Sproßachse von *P. Auricula* finden wir bei DE BARY (1877) folgende Angaben: „Mit der Erstarkung der Pflanze nimmt die Zahl der in ein Blatt tretenden Stränge bis auf 20 zu, diese treten schräg in den Stengel hinab und sind in diesem durch unregelmäßig und schräg in radialem und tangentialem Sinne verlaufende Äste und Anastomosen verbunden. Im Querschnitt tritt ein Ring von 15—20 etwas stärkeren, weit voneinander stehenden Bündeln hervor, welche den mittleren der Blattbasis entsprechen; im Umkreis des Ringes sind zahlreiche kleinere, vorwiegend von den seitlichen der Blattbasis herkommende ordnungslos zerstreut; in dem innerhalb des Ringes gelegenen Raume die Querschnitte der auch hier nach allen Seiten laufenden Verbindungszweige" (S. 262). Trotz dieser Angaben erscheint es notwendig, den Bündelverlauf von *P. Auricula* besonders in Scheitelnähe einer eingehenden Analyse zu unterziehen.

Der Erstarkung des VP folgt nun auch ein kräftiges, sich sowohl im Mark als auch in der Rinde abspielendes pDW: Die Vermehrung der Markmutterzellen hat eine Erhöhung der Zahl der Markperiklinen und damit eine Verdickung des gesamten Markkörpers zur Folge. Aber auch das als primäre Rinde anzusprechende Gewebe, dessen Zellen infolge früh einsetzender Intercellularenbildung einen ziemlich unregelmäßigen Verlauf nehmen, erfährt schon auf der Höhe des VK eine so beträchtliche Dickenzunahme, daß die Blattinsertionen über den VP hinausgehoben werden und dieser dadurch in eine flache Grube zu liegen kommt (Abb. 7, *III*). Wie bei *Taraxacum* ist deren Bildung das Ergebnis eines kräftigen EW, dem von Scheitelerstarkung begleitetes corticales und medulläres pDW zugrunde liegt.

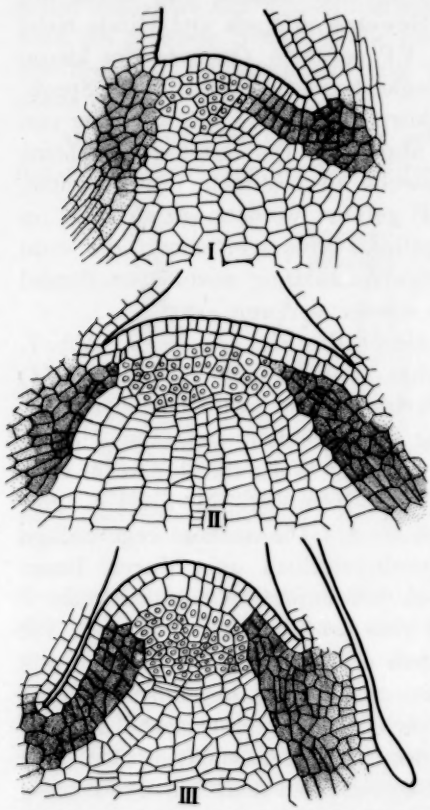


Abb. 8. *Primula Auricula*. Vegetationspunkte einer jüngeren (*I*), einer älteren (*II*) und einer zur Inflorescenzbildung (*III*) schreitenden Pflanze (etwa 140fach).

b) Ganzrosetten mit unbegrenzter Hauptachse.

Plantago media L. Das EW von *Plantago media* war bereits Gegenstand der Untersuchungen von TROLL und RAUH (1950), allerdings unter vorwiegend typologischen Gesichtspunkten, so daß es notwendig ist, auf dieses und die davon in Abhängigkeit stehende Scheitelgrubenbildung nochmals einzugehen. *P. media* und andere rosettenbildende Arten, wie *P. lanceolata* und *P. major* besitzen ein unvollständig maskiertes EW, das jedoch erst nach Entfernung der Rosettenblätter in einer spitzenwärts zunehmenden Verdickung der Sproßachse zum Ausdruck kommt. Wie der Längsschnitt Abb. 9, *I* durch eine alte Rosettenachse von *P. lanceolata* und die Entwicklungsreihe von *P. media* Abb. 9, *II—IV* zeigen, liegt diesem gesteigertes medulläres pDW zugrunde, in dessen Verlauf der Markkörper eine stark verkehrt-kegelförmige Ausbildung erfährt und seine Maximaldicke schon auf der Höhe des Scheitels erlangt.

Hierin, sowie hinsichtlich der Form des Scheitels und der Histogenese der auch bei *Plantago* sehr tiefen Scheitelgruben bestehen weitgehende Übereinstimmungen mit *Taraxacum*.

α) *Bau, Erstarkung und Formwechsel des Scheitels.* Ein medianer Längsschnitt durch den Scheitel einer Keimpflanze, der außer den Keimblättern nur 1 Primärblatt abgegliedert hat, zeigt völlige Übereinstimmung mit den entsprechenden Stadien von *Taraxacum* (Abb. 10, *I*). Der Scheitel bietet sich als wenigzelliges, ebenes, etwas schräg geneigtes Meristem dar, das von einer 7 Zellen breiten, einschichtigen

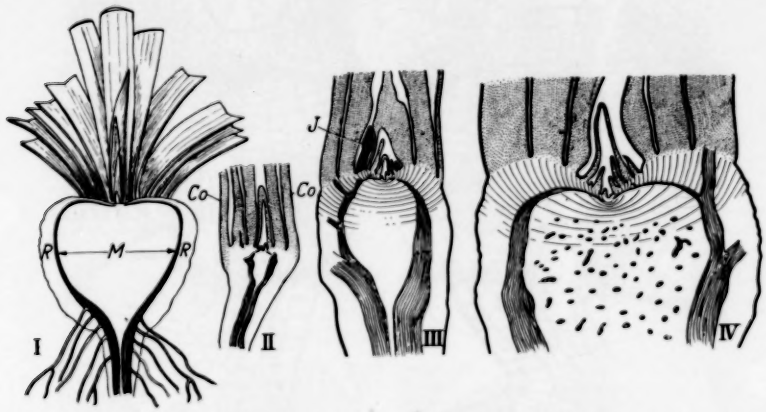


Abb. 9. *Plantago lanceolata*. *I* Längsschnitt durch eine alte Rosette; *M* Mark. *R* primäre Rinde; *II—IV P. media*. Längsschnitte verschieden alter Pflanzen; *Co* Kotyledonen, *J* Inflorescenzanlage. (*II—IV* etwa 10fach.)

Tunica überdeckt wird. Wie bei *Taraxacum* heben sich in deren Zentrum 2 Zellen durch stärker vacuolisierte Kerne heraus, die als Zentralzellen (Abb. 10, *I ZZ*) zu deuten sind. Unterhalb der Tunica erstreckt sich der 2 Zellreihen tiefe MMZ-Komplex, dessen 3. Zellschicht sich zum Markzellenmeristem umbildet. Das gesamte Scheitelmeristem ist also einschließlich der Tunica zunächst nur 4 Zellschichten tief. In weiterer Übereinstimmung mit *Taraxacum* strecken sich die vom Markzellenmeristem abgegebenen Zellen stark in radialer Richtung, wodurch, in Verbindung mit den in ihnen auftretenden Periklinalteilungen, eine starke Erweiterung des Markkörpers schon in Scheitelnähe bewirkt wird. Die Weiterentwicklung ist durch eine Verdoppelung der ursprünglich einschichtigen Tunica (Abb. 12, *III*) und kräftige Scheitelerstarkung gekennzeichnet (Abb. 10, *I—III*, Abb. 11, *I—VI*). Vergleichen wir jedoch die bei *Plantago* erreichten Beträge der Scheitelerstarkung mit denen von *Taraxacum*, so ist festzustellen, daß bei dem letzteren weitaus größere Werte erreicht werden. Man vergleiche hierzu die bei gleicher Vergrößerung gezeichneten Fig. *III*, Abb. 3 mit Fig. *VI*, Abb. 11. Dieser

Unterschied dürfte wohl mit der seitlichen bzw. terminalen Stellung der Inflorescenzen in Zusammenhang zu bringen sein.

Während der Erstarkung bleibt die Zonierung des Scheitelmeristems erhalten: der MMZ-Komplex (in Abb. 11 einfach schraffiert) folgt der Volumenvergrößerung des VP durch Zellvermehrung und erstreckt sich

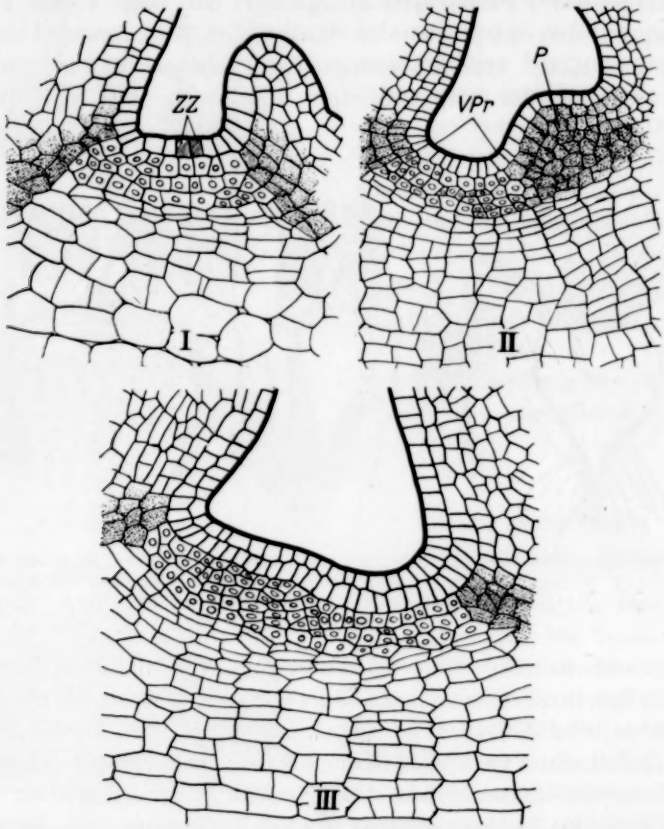


Abb. 10. *Plantago media*. Längsschnitt durch die Scheitel einer Keimpflanze (*I*), einer 1jährigen (*II*), einer mehrjährigen Pflanze (*III*). In *II* befindet sich der Scheitel im Zustand der Primordienausgliederung; *P* Primordiengewebe; *VPr* Scheitelrest (etwa 210fach.)

jetzt 5 Zellreihen tief (Abb. 10, *III*). Das Flankenmeristem, obwohl vorhanden, läßt sich auf allen Entwicklungsstadien nur schwer gegen den MMZ-Bereich abgrenzen[1].

In weiterer Übereinstimmung mit *Taraxacum* weist auch der Scheitel von *Plantago* keinen ausgeprägten Erstarkungsformwechsel auf; er

[1] Ohne Kenntnis der Zonierung anderer Vegetationspunkte, an denen diese klar in Erscheinung tritt, wäre bei Plantago nicht auf die Anwesenheit eines FLM zu schließen.

behält zeitlebens seine ebene bis leicht konkave Form bei (Abb. 11, 12), wobei die Scheitelebene, je nachdem auf welcher Seite gerade ein Blatt abgegliedert wird (auf Längsschnitten), bald von rechts oben nach links unten (Abb. 11, *IV*), bald in umgekehrter Richtung (Abb. 11, *VI*) geneigt ist. Viel ausgeprägter aber ist der Plastochronformwechsel, der auf Jugendstadien den Betrag der Erstarkung nahezu vollständig „maskiert". Bei der Ausgliederung der Blattprimordien wird nämlich,

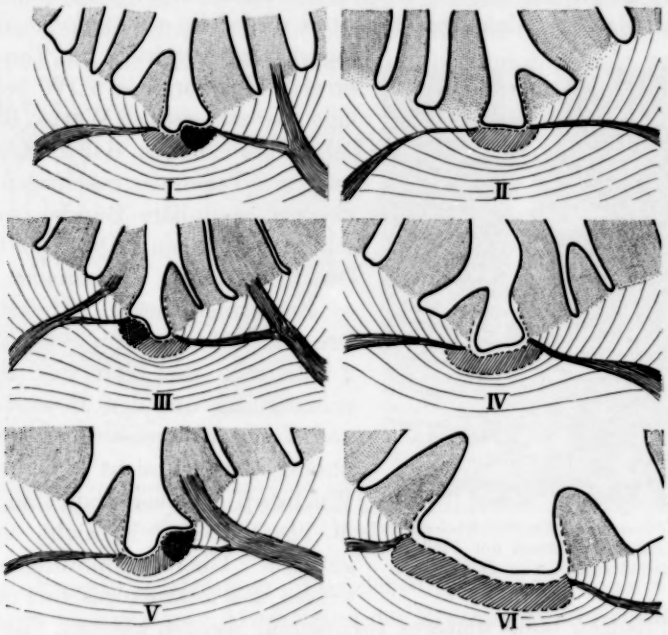


Abb. 11. *Plantago media.* Scheitelerstarkung und Plastochronformwechsel; Scheitelmeristem einfach, Primordiengewebe doppelt schraffiert (40fach).

solange das Volumen des Scheitels noch klein ist, stets ein großer Teil des Meristems aufgebraucht (Abb. 10, *II*; 11, *I*, *III*, *V*). Während dieses Vorgangs tieft sich dann der Scheitel stark konkav ein (Abb. 11, *I*, *III*, *V*). Zwischen den einzelnen Plastochronen aber erfährt der Scheitel eine Restauration und kehrt dabei zu seiner alten konkaven, oft etwas schief geneigten Form zurück (Abb. 11, *II*, *IV*, *VI*; Abb. 12).

β) *Die primären Verdickungsprozesse und die Scheitelgrubenbildung* vollziehen sich in gleicher Weise wie bei *Taraxacum*: An der Achsenverdickung beteiligt sich in erster Linie medulläres pDW (Abb. 9, *II—IV*), dem Zellvermehrung und radiale Zelldehnung zugrunde liegt. Dadurch erreicht der Markkörper schon auf der Höhe des Scheitels seine maximale Dicke. Da nun in weiterer Übereinstimmung mit *Taraxacum* Internodienstreckung vollständig unterbleibt und die Antiklinalteilungen

in den Markperiklinen sehr regelmäßig erfolgen, nehmen die Markzellen insgesamt den von *Taraxacum* her bekannten bogenförmig-antiklinalen Verlauf. Wenngleich auch medulläres pDW die Voraussetzung zur Scheitelgrubenbildung liefert, so entstehen diese doch erst durch die Tätigkeit des corticalen pDW, das sich in gleicher Weise wie bei *Taraxacum* vollzieht, so daß auf die dort gegebene Darstellung verwiesen werden kann (s. Abb. 9, *II—IV*). Da auch die Rindenzellen in bogenförmigen Antiklinen zu den Primordien hinziehen, werden diese weit über den Scheitel hinausgehoben und dieser in eine tiefe Grube verlagert. Im Vergleich zu *Taraxacum* erreicht das corticale pDW bei *Plantago* aber nur geringe Werte. Bemerkt sei schließlich noch, daß in den scheitelfernen Teilen des mächtigen Markkörpers medulläre Bündel zur Ausbildung gelangen (Abb. 9, *IV*), die dem Mark von *Taraxacum* fehlen.

Abb. 12. *Plantago media*. Scheitel einer älteren Keimpflanze nach der Primordienausgliederung (etwa 260fach).

Zusammenfassend ist festzustellen, daß *Plantago* und *Taraxacum*, 2 Pflanzen, die, von der Inflorescenzstellung und den Bewurzelungsverhältnissen abgesehen, schon in morphologischer Hinsicht dem gleichen Wuchstyp einzuordnen sind, auch in histologischer Hinsicht so weitgehende Übereinstimmungen aufweisen, daß mikroskopische Präparate beider Pflanzen ohne weiteres verwechselt werden können. Wenn die Rosetten des Wegerichs im Vergleich zu denen des Löwenzahns nur eine „verhältnismäßig kurze Lebensdauer haben, so dürfte der Grund hierfür nicht in einer Erschöpfung des Vegetationspunktes liegen, sondern in dem Umstand zu suchen sein, daß infolge mangelnder oder unvollständiger Wurzelkontraktion die Endknospe zu hoch über den Boden gerät und dabei erfriert oder vertrocknet" (TROLL 1937, S. 234).

Geum aleppicum JACQ. (= *G. strictum* AIT.)[1]. Innerhalb der Gattung *Geum* konnten für alte Rosettenachsen von *G. aleppicum* Scheitelgruben nachgewiesen werden. Wenn auch die Rhizomachsen der übrigen Arten, *G. rivale* und *G. urbanum*, ein kräftiges EW aufweisen (s. RAUH und REZNIK 1951, Abb. 10), so bleibt dieses in seinen Ausmaßen hinter dem von *G. aleppicum* zurück, und deshalb finden sich bei diesen Arten

[1] Wenn *G. aleppicum* bei den Ganzrosettenpflanzen abgehandelt wird, so deswegen, weil die Primärachse ganzrosettigen Wuchs zeigt und die beblätterten Inflorescenztriebe achselständig sind.

auch keine Scheitelgruben. In Übereinstimmung mit den bisher besprochenen Pflanzen liegt dem EW auch von *Geum* gesteigertes medulläres pDW zugrunde, wie ein Vergleich der Fig. *I* und *II* der Abb. 13 lehrt. In Übereinstimmung mit *Plantago* und *Taraxacum* strecken sich die vom Markzellenmeristem abgegebenen Zellen sofort in radialer Richtung, wobei zahlreiche Periklinalteilungen auftreten. Da nun auch bei *Geum* Internodienstreckung unterbleibt, nehmen die sehr regelmäßig angeordneten Markzellen an der Basis des VK einen stark konkav-bogenförmigen Verlauf (Abb. 14). Mit fortschreitender Entfernung vom VK verflachen sich die Antiklinen mehr und mehr, um dann fast waagrecht

Abb. 13. *Geum aleppicum*. *I* Längsschnitt durch eine ältere Keimpflanze; *II* deren Vegetationspunkt vergrößert; *III* alte Rosettenachse im Längsschnitt, mit der Inflorescenzanlage *J*. (*I* und *III* etwa 10-, *II* 140fach.)

zu den Procambiensträngen hinzuziehen (Abb. 14). Intercellularenbildung in rückwärtigen Abschnitten der Rhizomachse bringt die regelmäßige Anordnung der Markzellen zum Verschwinden. Wie bei *Taraxacum* und *Plantago* liefert medulläres pDW zwar die Voraussetzung zur Entstehung der Scheitelgruben, doch führen erst die Verdickungsprozesse in der primären Rinde zu deren Vertiefung. Der Verlauf und die Anordnung der Rindenzellzüge ist aus Abb. 13, *III* zu entnehmen, aus der weiterhin hervorgeht, daß das corticale pDW nur geringe Beträge erreicht.

Bau und Zonierung des VP. Der VP des in Abb. 13, *I* wiedergegebenen Jugendstadiums stellt einen flach-kuppelförmigen, von einer zweischichtigen Tunica überdeckten Höcker dar[1], der eine klare Zonierung aufweist (Abb. 13, *II*). Die Corpusspitze wird vom MMZ-Komplex eingenommen, in dessen Zentrum sich eine größere Initialzelle (Abb. 13, *II*, schraffiert) heraushebt, um die sich in schalenförmiger Anordnung

[1] Gelegentlich sind an der Peripherie der T 2 vereinzelte Periklinalteilungen zu beobachten.

die übrigen Markmutterzellen gruppieren. An der Basis des VP bilden sich diese zum Markzellenmeristem um. Die Peripherie des VP wird vom FLM eingenommen, dessen spindelförmige Zellen mit ihren stark färbbaren Kernen sich deutlich von den Markmutterzellen abheben. Nach rückwärts setzen sich die Zellen des FLM in die Procambienstränge fort.

Die für das Jugendstadium geschilderte Zonierung lassen auch erstarkte VPe alter Rosetten erkennen. Eine weitere Vermehrung der Zahl der Tunicaschichten und ein mit der Erstarkung des VP verbundener Formwechsel ist nicht festzustellen.

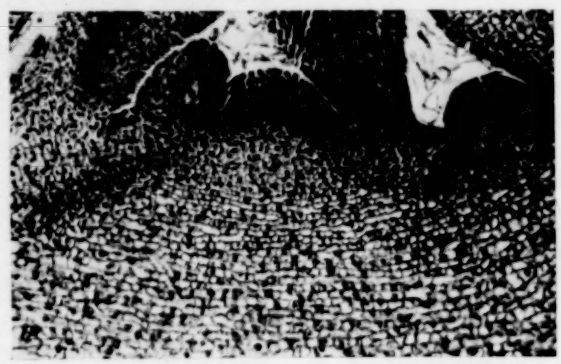


Abb. 14. *Geum aleppicum*. Vegetationspunkt der in Abb. 13, *III* wiedergegebenen Rosette (210fach).

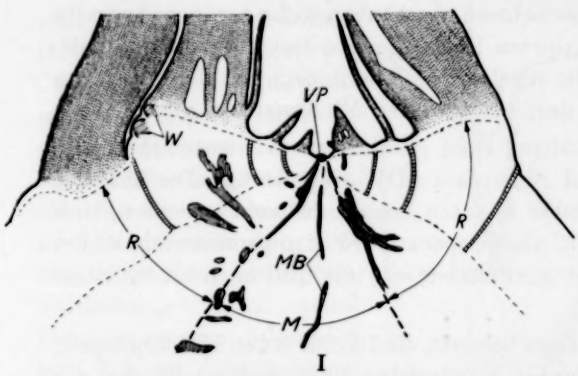
Nymphaea alba L., obwohl eine Rhizompflanze, kann in diesem Zusammenhang durchaus abgehandelt werden, da diese mit den echten Rosettenpflanzen Hemmung der Internodienentwicklung und damit rosettige Anordnung der Blätter gemeinsam hat. Für die Rhizomspitze von *Nuphar* und *Nymphaea* gibt bereits RACIBORSKI (1894) an, daß diese „schwach gewölbt, flach oder auch vertieft" sei. Ein Längsschnitt durch die Spitze eines mäßig starken Rhizoms[1] bestätigt denn auch, daß der kuppelförmig aufgewölbte VP in eine breite und flache Scheitelgrube verlagert ist (Abb. 15, *I*). Im Gegensatz zu den bisher besprochenen Beispielen aber verdankt diese ihre Entstehung weniger einem medullären, als vielmehr einem kräftigen corticalen pDW, obwohl wie bei *Primula Auricula* auf Längsschnitten eine scharfe Grenze zwischen Mark und Rinde infolge des unregelmäßigen Bündelverlaufs nur schwer zu ziehen ist (in Abb. 15 ist die Grenze zwischen beiden Geweben durch eine dicke gestrichelte Linie markiert). Ein geschlossener bzw. fast geschlossener Bündelring ist auf Querschnitten nur unmittelbar unterhalb des VP festzustellen; in einiger Entfernung davon löst sich dieser

[1] Keimpflanzen standen leider nicht zur Verfügung.

in einzelne, oft miteinander anastomisierende Bündel auf. Erschwert wird die Abgrenzung der Rinde vom Mark weiterhin dadurch, daß ein oder mehrere markständige Bündel (Abb. 15 *I*, *MB*) auftreten[1].

Schon auf der Höhe des VK setzt kräftiges corticales pDW ein, wobei die Rindenzellen in steil aufgerichteten „Antiklinen" zur Sproßepidermis und zu den Blattbasen hinziehen und diese über den eigentlichen Scheitel hinausheben.

Während auf der Höhe des VK das Rindengewebe aus homogenen Zellen besteht, tritt schon wenig unterhalb desselben eine schon mit bloßem Auge wahrnehmbare Differenzierung



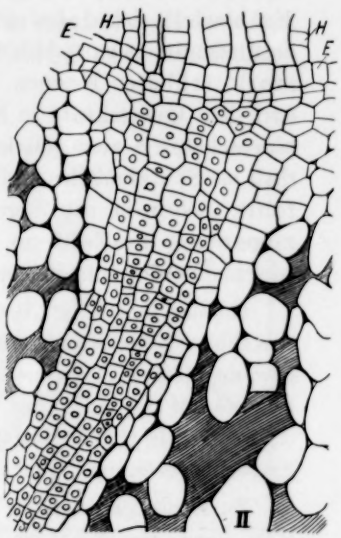


Abb. 15. *Nymphaea alba*. *I* Längsschnitt durch die Spitze eines mittelstarken Rhizoms; *M* Mark, *R* primäre Rinde, *MB* markständige Bündel, *W* Anlagen sproßbürtiger Wurzeln (10fach); *II* Ausschnitt aus den peripheren Rindenpartien; *E* die mit Haaren *H* versehene Sproßepidermis.

des Rindengewebes ein. Das an die zentralen, die Rinde vom Mark scheidenden Bündelstränge angrenzende Rindengewebe besteht aus einem kleinzelligen Parenchym mit wenigen und sehr kleinen Intercellularen (in Abb. 15, *I* durch eine dünn gestrichelte Linie abgegrenzt). Darauf folgt nach außen ein von großen Intercellularen durchzogenes Durchlüftungsparenchym, das gegen die Epidermis hin von 5—6 Zellschichten begrenzt

[1] Eine Klärung der Bündelanordnung, die allerdings der Nachuntersuchung bedarf, versucht Nägeli (1858, S. 121) zu geben: „Der Querschnitt zeigt zwischen Mark und Rinde einen Kreis von getrennten Strängen, welche meistens in 3, selten in 4 schon dem bloßen Auge kenntliche Partien getrennt ist. Die 3 Partien sind von ungleicher Breite; sie wechseln in der Länge des Stammes fortwährend und stehen mit der Anordnung der Blätter in Beziehung. Die Stränge des Kreises sind vielfach miteinander verbunden, so daß derselbe, von der Fläche betrachtet, ein Netz darstellt. Mitten durch das Mark verläuft ein zentraler Strang, welcher hin und wieder einen Ast nach dem Netz abgehen läßt." Die Bündelverteilung auf den Rhizomquerschnitten weicht stark von jener bei Dikotylen ab und erinnert vielmehr an die der Monokotylen.

wird, deren Zellen wieder lückenlos aneinanderschließen. Diese Rindenzellen scheinen maßgeblichen Anteil an der Achsenverdickung zu haben, denn in ihnen treten zahlreiche Periklinalteilungen auf (Abb. 15, *II*). In dem intercellularenreichen Durchlüftungsparenchym fallen nun Zellzüge auf, welche die anfänglich bogenförmig-antiklinale Zugrichtung auch weiterhin beibehalten und die, soweit sich dies auf Grund des vorliegenden Materials beurteilen läßt, jeweils zwischen 2 Blattansätzen verlaufen. Es handelt sich dabei um kleine, rektanguläre, lückenlos aneinanderschließende Zellen (Abb. 15, *II*) mit dichtem plasmatischem Inhalt und stark färbbaren Kernen. Welche Funktionen diese Zellzüge, die auch auf dem Querschnitt in Erscheinung treten und miteinander anastomisieren können, ausüben, konnte nicht geklärt werden; es ist anzunehmen, daß sie Stützfunktionen übernehmen, da Stützgewebe sonst vollständig fehlt. Schon im undifferenzierten Rindengewebe heben sich diese Zellzüge durch ihre Zellform, die regelmäßige Anordnung und den dichteren plasmatischen Inhalt von den umgebenden Rindenzellen ab.

Infolge fehlender Ausbildung eines geschlossenen Cambiummantels unterbleibt bei *Nuphar* und *Nymphaea* sDW vollständig. Die Bildung der mächtigen Rhizome beider Pflanzen beruht auf rein primären, sich bereits auf der Höhe des VK abspielenden Verdickungsprozessen, wobei das corticale pDW über das medulläre überwiegt und auch zu Scheitelgrubenentstehung führt.

Zur Architektonik des VP sei bemerkt, daß dieser einen halbkugeligen, von einer einschichtigen Tunica überdeckten Höcker darstellt, der die bekannte Zonierung aufweist.

Anhang: Stammsucculente *Cactaceen* und *Euphorbiaceen*.

Anhangsweise soll auf die Bildung der Scheitelgruben einiger Stammsucculenten eingegangen werden, die bei vielen Arten so tief und so groß sind, daß sie schon makroskopisch wahrnehmbar sind. Wenn die Stammsucculenten auch keine Rosettenpflanzen im eigentlichen Sinn sind, da sie normaler Laubblätter in vielen Fällen vollständig entbehren, so haben sie mit diesen doch extreme Internodienstauchung und ein davon in Abhängigkeit stehendes kräftiges EW gemeinsam, das schon äußerlich in der verkehrt-kegelförmigen Gestalt der gesamten Sproßachse bzw., sofern Verzweigung eintritt, der einzelnen Sproßglieder zum Ausdruck kommt. Schon wenig unterhalb des Scheitels erreicht die Sproßachse ihre größte Dicke und die VPe werden, worauf schon WETTERWALD (1889), GOEBEL (1933) und neuerdings TROLL und RAUH (1950) verwiesen haben, in ± tiefe Scheitelgruben eingesenkt. Obwohl die Stammsucculenten von jeher das Interesse der Morphologen, Physiologen und Ökologen beansprucht haben, so liegen über diese

merkwürdigerweise wenig histologische Untersuchungen vor, was schon Boke (1941, 1952) mit Recht betont. Er gibt denn auch als erster eine ausführliche und klare Darstellung der VP-Zonierung einiger Cactaceen (*Trichocereus Spachianus Echinocereus Reichenbachii* und *Opuntia cylindrica*), ohne allerdings auf die Frage des EW und der Scheitelgrubenbildung einzugehen.

Dem EW der Stammsucculenten liegt, worauf auch Troll (1937) hinweist, ausschließlich pDW, und zwar sowohl in corticaler als auch in medullärer Form zugrunde. Im ersteren Fall erfährt die primäre Rinde eine kräftige Verdickung und bildet sich zu einem mächtigen Wasserspeicher um, im letzteren wird diese Rolle vom Markkörper (viele *Opuntia*-Arten) übernommen. Eine Zwischenstellung nehmen die meisten stammsucculenten *Euphorbiaceen* ein; bei diesen haben Mark und Rinde etwa den gleichen Anteil an der Sproßverdickung. Aus jeder Gruppe sei im folgenden ein Beispiel ausführlicher besprochen.

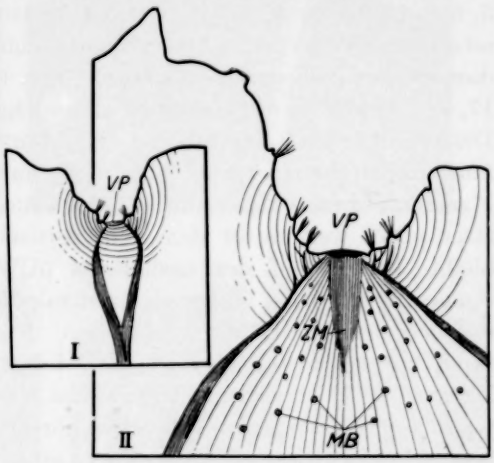


Abb. 16. *Echinopsis catamarcensis*. I und II Längsschnitte durch eine junge und eine ältere 2 cm dicke Pflanze; *VP* Vegetationspunkt, *ZM* zentrale Marksäule, *MB* markständige Bündel (10fach).

Echinopsis catamarcensis Web. Ein Längsschnitt durch ein Jugendstadium ist in Abb. 16, *I* wiedergegeben. Der spitzenwärts kegelförmig erweiterte Markkörper hat im Vergleich zur Rinde eine geringe Mächtigkeit. Schon auf diesem Stadium ist der VP in eine kraterförmige Vertiefung verlagert, die ihre Entstehung einem kräftigen, sich in der Rinde abspielenden pDW verdankt. Die vom Flankenmeristem (siehe unten) erzeugten Rindenzellen strecken sich sofort in radialer Richtung und nehmen, wohl unter dem Einfluß des gehemmten Längenwachstums, einen steil aufgerichteten, bogenförmig-antiklinalen Verlauf. Dadurch wird das Rindengewebe mitsamt den Areolen über den Scheitel emporgehoben. In den rückwärtigen Rindenpartien geht die regelmäßige Zellanordnung durch die Ausbildung großer Saftzellen und Intercellularen bald verloren. Auch die Markzellen weisen in Scheitelnähe eine streng reihige Anordnung auf. Der Scheitel selbst ist ein flaches, fast ebenes, von einer einschichtigen Tunica überdecktes Meristem. Die Corpusspitze wird von einer breitgezogenen, 4—5 Zellreihen tiefen MMZ-Gruppe eingenommen, deren basale Zellen das Markzellenmeristem

liefern. Umgeben werden die Markmutterzellen vom Flankenmeristem, dessen schmal spindelförmige Zellen mit ihren stark färbbaren Kernen sich deutlich von den unregelmäßig angeordneten, sich nach allen Richtungen teilenden und stark vacuolisierten Markmutterzellen abheben. Klarer und übersichtlicher aber ist die Zonierung älterer, kräftig erstarkter, in Abb. 17, *I—II* wiedergegebener VPe. Sie stimmt in allen Einzelheiten mit der von BOKE für *Trichocereus Spachianus* und *Echinocereus Reichenbachii* beschriebenen Zonierung überein, und man vergleiche hierzu die von ihm beigegebenen Abbildungen (1941: Fig. 1, 3, 5, 6, 8; 1951: Fig. 1, 6, 7)[1]. Dem im Verlauf der Weiterentwicklung einsetzenden EW geht eine kräftige Erstarkung des Scheitels voraus, wobei dieser unter Volumenvergrößerung[2] sich leicht aufwölbt (Abb. 16, *II*; 17, *II*). Der VP zeigt also einen ausgeprägten Erstarkungsformwechsel. Die mit der Scheitelerstarkung einherlaufende Vermehrung der Markmutterzellen hat nun auch eine nicht unbeträchtliche Verdickung des Markkörpers zur Folge (Abb. 16, *II*), wenngleich der Betrag des medullären pDW weit hinter dem vom corticalen pDW erreichten zurückbleibt. Im Verlauf des medullären pDW läßt sich nun häufig eine Sonderung in ein zentrales, als „zentrale Marksäule"[3] zu bezeichnendes und in ein peripheres Mark feststellen. Die Bildung der zentralen Marksäule kommt dadurch zustande, daß die im Verlauf des EW einsetzende Markverdickung aus dem Zentrum des MMZ-Komplexes in dessen Peripherie (= Randwachstum des Markkörpers) verlagert wird. Die Zellen beider Markpartien weisen deshalb auch verschiedene Zugrichtungen

[1] Am VP von *Trichocereus* unterscheidet BOKE 4 Zonen "which differ in position, cell size, degree of vacuolation, staining reaction, planes of cell division, and relative thickness of the cell walls. Zone 1 is a uniseriate tunica ... At the summit of the corpus is a mass of initial cells (= zone 2) which represents the place of origin of the rest of the corpus. The initials are relatively large, conspicuously vacuolated, and irregularly arranged... On its flanks the initial group produces a peripheral or generative region (= zone 3), which is directly concerned with the production of the stelar vascular bundles, the cortex, and the foliar organs. The cells are smaller than those of zone 2 and are not so conspicuously vacuolated. They retain more stain than do the initial cells, and mitotic figures are rather frequent, a fact which indicates that the production of new cells is relatively more important than cell enlargement by vacuolation.... In transections which pass near the summit of the apex, they form long files which radiate from the periphery of the initial group.... The rib meristem (= zone 4) which is responsible for the production of the pith and medullary vascular system, arises from the small cells at the base of the initial group" (1941, S. 657/659).

[2] BOKE bezeichnet den VP von *Trichocereus Spachianus* als "considerably larger than that of any other angiosperm yet reported" (1941, S. 657).

[3] Die gleiche Differenzierung des Markkörpers wurde von RAUH und REZNIK (1953) bereits für die Köpfchenachsen von *Zinnia elegans*, *Rudbekcia hirta* und *Helianthus annuus* beschrieben. Auch BOKE (1951) machte in seinen Untersuchungen an *Echinocereus Reichenbachii* ähnliche Beobachtungen.

auf: Die ersteren sind in streng parallel verlaufenden Periklinen angeordnet und ziehen geradlinig nach rückwärts (Abb. 17, *I ZM*); sie strecken sich dabei unter lebhafter Antiklinalteilung in longitudinaler Richtung; die peripheren Markzellen hingegen setzen in schräg verlaufenden, ± unregelmäßigen Periklinen an die zentrale Marksäule an (Abb. 16, *II*; 17, *I PM*) und weisen eine mehr radial gerichtete Dehnung

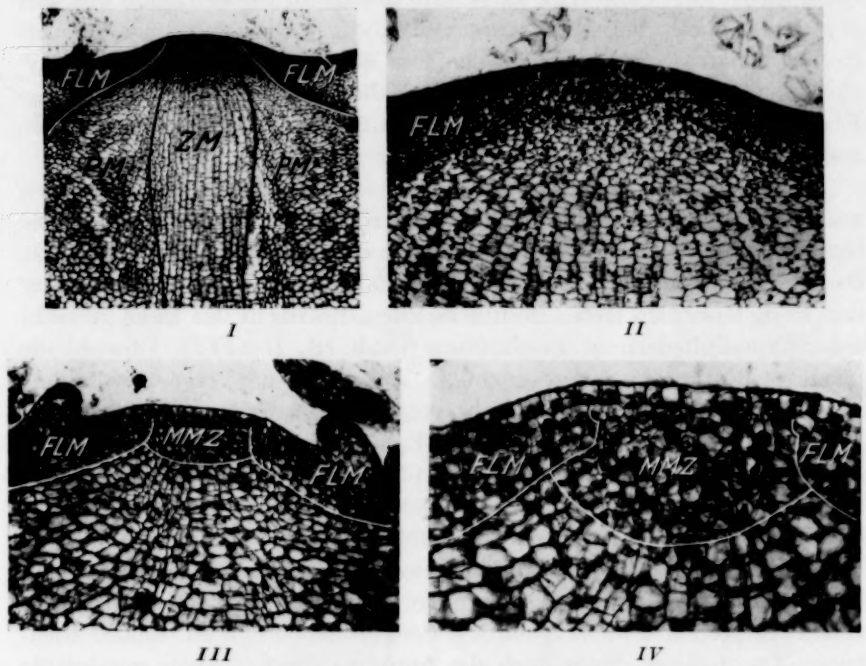


Abb. 17. *I—II Echinopsis calamarcensis.* *I* Längsschnitt durch eine 2 cm dicke Pflanze, deren Scheitel in *II* vergrößert wiedergegeben ist; *ZM* zentrale Marksäule, *PM* peripheres Mark. *III—IV Opuntia gymnocarpa.* *III* Längsschnitt durch den Scheitel eines jüngeren Sproßgliedes, dessen Scheitel in *IV* vergrößert wiedergegeben ist. (*I* etwa 45-, *II—III* etwa 90-, *IV* etwa 240fach.)

auf. Während das periphere Mark schon in Scheitelnähe von medullären Bündeln (Abb. 16, *II MB*) durchzogen wird, bleibt die zentrale Marksäule davon frei. Nach rückwärts verliert sich die Sonderung in zentrales und peripheres Mark. Die Bildung der zentralen Marksäule scheint also nur eine Eigentümlichkeit älterer, bereits kräftig erstarkter Pflanzen zu sein.

Den Hauptanteil an der Sproßverdickung hat aber nicht, wie bereits erwähnt, das Mark, sondern die primäre Rinde, die durch Zellneubildung (vom FLM her) und gesteigerte Teilungstätigkeit der bereits vorhandenen Rindenzellen schon im Scheitelbereich bzw. oberhalb desselben ihren größten Durchmesser erreicht, was zu einer weiteren Vertiefung

der Scheitelgrube führt (Abb. 16, *II*). Der Verlauf der Rindenzellen ist der gleiche wie auf dem Jugendstadium, wird aber durch weitere Periklinalteilungen und ± unregelmäßig radial-antiklinale Streckung der jeweils neu gebildeten Zellen bald gestört.

Hinsichtlich der Scheitelgrubenbildung stimmt *Echinopsis* mit *Nymphaea* insofern überein, als diese das Resultat eines gesteigerten corticalen pDW ist. Cambiales sDW unterbleibt in Übereinstimmung mit *Nymphaea* auch bei *Echinopsis* vollständig. Soweit sekundäre Verdickungsprozesse auftreten, handelt es sich vorwiegend um die parenchymale Form, d. h. um weitere Periklinalteilungen in scheitelfernen Rindenzellen. Bemerkt sei noch, daß außer dem medullären auch ein corticales Bündelsystem zur Ausbildung gelangt.

Opuntia gymnocarpa WEB. Im Gegensatz zu *Echinopsis* und vielen anderen Kakteen sind die Scheitelgruben von Vertretern der Gattung *Opuntia*, wenn es bei diesen überhaupt zu deren Bildung kommt, sehr flach. Den meisten *Cylindro*-Opuntien fehlen sie vollständig, und bei den *Platy*-Opuntien treten sie nur an alten, kräftig in die Dicke gewachsenen Sproßgliedern in Erscheinung (Abb. 18, *II—III*). Obwohl die primäre Rinde einen nur geringen Anteil an der Sproßverdickung hat — der Achsenkörper besteht zum größten Teil aus Markgewebe (Abb. 18, *I*) —, bewirkt diese letzten Endes dennoch die Grubenbildung.

Der VP ist wie bei *Echinopsis* ein breitgezogener, flachgewölbter, von einer einschichtigen Tunica überdeckter Höcker, der wiederum eine sehr klare Zonierung aufweist (Abb. 17, *III—IV*): MMZ-Komplex, Markzellenmeristem und Flankenmeristem grenzen sich scharf voneinander ab. Die vom Markzellenmeristem in Periklinen abgegebenen Markzellen strecken sich unter lebhaften Periklinalteilungen in radialer Richtung. Da in Scheitelnähe auch die Antiklinalteilungen sehr regelmäßig auftreten und Internodienstreckung unterbleibt, entstehen die bekannten bogenförmig-antiklinal verlaufenden Zellzüge (Abb. 17, *III*), die schon auf der Höhe des VK eine mächtige Erweiterung des Markkörpers und damit ein starkes Ausbiegen der Procambienstränge zur Folge haben (Abb. 18, *I—III*). Ein recht auffälliges Verhalten zeigen die Rindenzellen. An der Basis des VK ist die Rinde des in Abb. 18, *III* wiedergegebenen Längsschnittes, einschließlich der Epidermis, 6 Zellreihen dick (Abb. 18, *IVa*). Ihre Zellen strecken sich parallel zur Epidermis, also tangential (Abb. 18, *IVa*). Die zur Scheitelgrubenbildung führende Verdickung der Rinde, die sich in einiger Entfernung vom VK vollzieht (in Abb. 18, *III* mit *b* bezeichnet), beruht nun weniger auf einer Zellvermehrung — die Zahl der Rindenzellschichten hat sich auf durchschnittlich 12 erhöht — als vielmehr auf einer Änderung der Dehnungsrichtung: die Rindenzellen strecken sich jetzt senkrecht zur Epidermis, also radial, so daß steil aufgerichtete, antiklinal verlaufende Zellzüge

zustande kommen (Abb. 18, *IVb*). Nur die Epidermis und die darunterliegenden 2—3 Zellschichten behalten auch weiterhin ihre ursprüngliche tangentiale Dehnungsrichtung bei, wobei zahlreiche Antiklinalteilungen

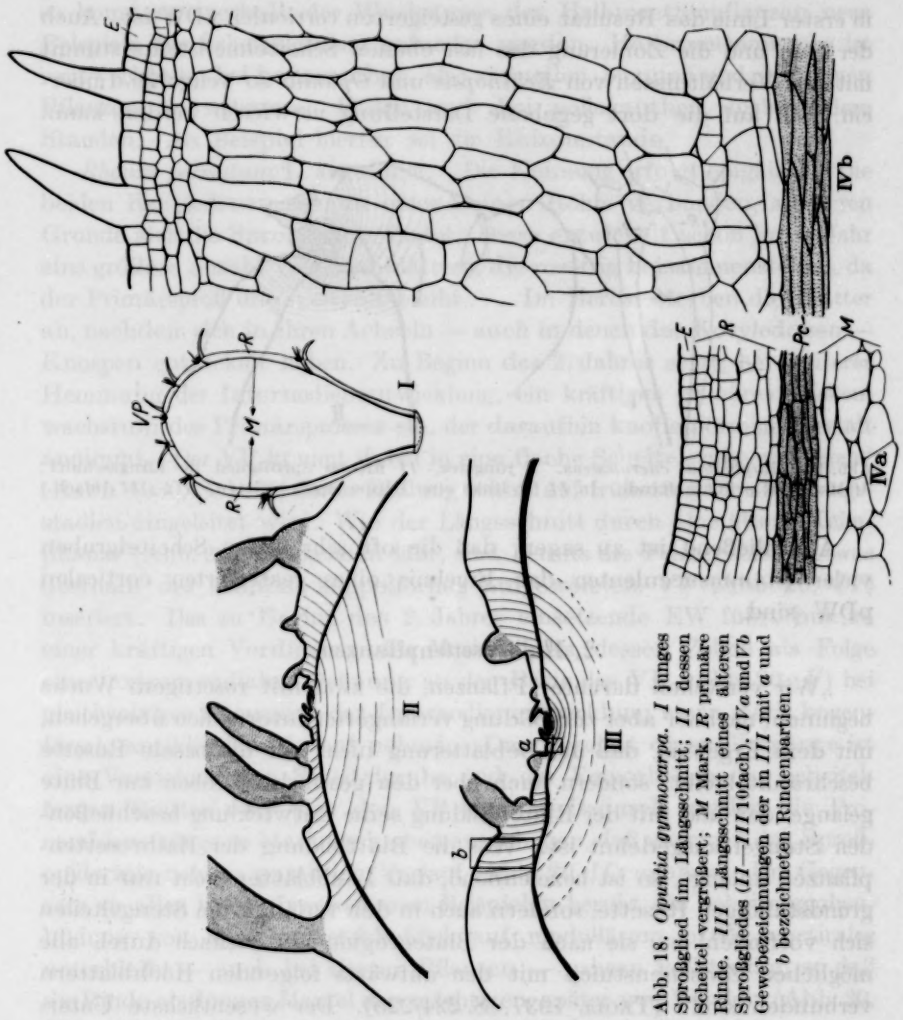


Abb. 18. *Opuntia gymnocarpa*. *I* junges Sproßglied im Längsschnitt; *II* dessen Scheitel vergrößert; *M* Mark, *R* primäre Rinde. *III* Längsschnitt eines älteren Sproßgliedes (*II*—*III* 10fach). *IVa* und *Vb* Gewebebezeichnungen der in *III* mit *a* und *b* bezeichneten Rindenpartien.

auftreten. Diese Änderung der Streckungsrichtung führt denn auch — in Verbindung mit dem gesteigerten medullären pDW — zu einem Emporheben der Rinde über den Scheitel und damit zur Grubenbildung.

Euphorbia caerulescens Haw. Die Scheitelgrubenbildung und das EW der 3—4rippigen Sprosse von *E. caerulescens* und anderer Arten (*E. officinarum*, *E. Echinus* u. v. a.) bietet im Vergleich zu *Echinopsis*

nichts wesentlich Neues, abgesehen davon, daß an der Sproßverdickung der Markkörper einen größeren Anteil als bei *Echinopsis* hat. Der Verlauf und die Anordnung der Mark- und Rindenzellen ist aus der Abb. 19 zu entnehmen, aus denen weiterhin zu ersehen ist, daß die Grubenbildung in erster Linie das Resultat eines gesteigerten corticalen pDW ist. Auch der Bau und die Zonierung des fast ebenen Scheitelmeristems stimmt mit den Verhältnissen von *Echinopsis* und *Opuntia* so weitgehend überein, daß auf die dort gegebene Darstellung verwiesen werden kann.

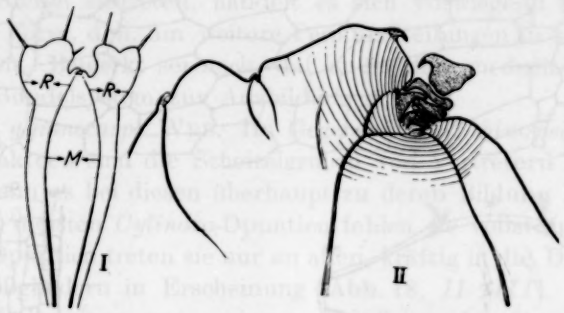


Abb. 19. *Euphorbia caerulescens*. *I* jüngeres, *II* älteres Sproßglied im Längsschnitt; *M* Mark, *R* primäre Rinde. In *II* ist links eine Rippe angeschnitten. (*I* 2-, *II* 10fach.)

Abschließend ist zu sagen, daß die oft sehr tiefen Scheitelgruben vieler Stammsucculenten das Ergebnis eines gesteigerten corticalen pDW sind.

2. Halbrosettenpflanzen.

„Wir verstehen darunter Pflanzen, die zwar mit rosettigem Wuchs beginnen, nachher aber zur Bildung verlängerter Internodien übergehen, mit dem Ergebnis, daß die Beblätterung nicht auf die basale Rosette beschränkt bleibt, sondern auch über den gestreckten, oben zur Blüte gelangenden und mit der Blütenbildung seine Entwicklung beschließenden Stengel ausgedehnt ist. Was die Blattbildung der Halbrosettenpflanzen anlangt, so ist bezeichnend, daß Laubblätter nicht nur in der grundständigen Rosette, sondern auch in den verlängerten Stengelteilen sich vorfinden, wo sie nach der Blütenregion hin vielfach durch alle möglichen Zwischenstufen mit den aufwärts folgenden Hochblättern verbunden sind“ (Troll 1937, S. 224/225). Der wesentlichste Unterschied zu den Ganzrosettenpflanzen besteht also darin, daß der rosettige Wuchs allein auf die vegetative Phase beschränkt ist und mit dem Eintritt in die florale Phase aufgelöst wird. Da nun schon früher von Troll und Rauh (1950, S. 57) auch für Halbrosettenpflanzen, insbesondere Umbelliferen, ein kräftiges, allerdings nur auf den Rosettenbereich beschränktes EW nachgewiesen werden konnte, das mit dem Eintritt in die reproduktive Phase rasch abklingt, wurden weitere Halb-

rosettenpflanzen, speziell im Hinblick auf die Bildung von Scheitelgruben, untersucht. Es war zu erwarten, daß gesteigertes pDW auch bei Halbrosetten zur Scheitelgrubenbildung führen kann. Diese Vermutung wurde durch die vorliegenden Untersuchungen bestätigt, und so konnten innerhalb des Wuchstypes der Halbrosettenpflanzen neue Beispiele für Scheitelgruben gefunden werden. Halbrosettenwuchs ist weit verbreitet bei hapaxanthen, also annuellen, biennen und pluriennen Pflanzen, in selteneren Fällen auch bei pollakanthen, insbesondere Stauden. Als Beispiel hierfür sei die Rhizomstaude

Rheum palmatum L. angeführt. „Die Keimung erfolgt epigäisch. Die beiden Kotyledonen sind zu einer kleinen Röhre verbunden, an deren Grunde sich die Sproßknospe findet. Diese entwickelt schon im 1. Jahr eine größere Anzahl von Laubblättern, die rosettig beisammenstehen, da der Primärsproß unentwickelt bleibt . . . Im Herbst sterben die Blätter ab, nachdem sich in ihren Achseln — auch in denen der Kotyledonen — Knospen entwickelt haben. Zu Beginn des 2. Jahres setzt, bei weiterer Hemmung der Internodienentwicklung, ein kräftiges primäres Dickenwachstum des Primärsprosses ein, der daraufhin knollenförmige Gestalt annimmt. Der VP kommt dabei in eine flache Scheitelgrube zu liegen" (Rauh 1950, S. 186), deren Bildung schon auf frühesten Entwicklungsstadien eingeleitet wird. Wie der Längsschnitt durch eine ältere Keimpflanze (Abb. 20, *I*) erkennen läßt, sind bereits die Primärblätter etwas oberhalb des kleinen, kuppelförmig aufgewölbten VP (Abb. 20, *IV*) inseriert. Das zu Beginn des 2. Jahres einsetzende EW führt nun zu einer kräftigen Verdickung des Markkörpers, dessen Zellen als Folge einer extrem radialen Dehnung an der Basis des VK (Abb. 20, *V*) bei gleichzeitiger Hemmung der Internodienentwicklung einen stark bogenförmig-antiklinalen Verlauf nehmen. Das Resultat dieser Vorgänge ist eine Vertiefung der Scheitelgrube und ein Emporheben der scheitelfernen Blätter weit über den VP hinaus. Dadurch werden die Procambienstränge so stark nach oben ausgebogen, daß sie einen der Sproßepidermis nahezu parallelen Verlauf (Abb. 20, *II*) nehmen. Im Gegensatz zu allen bisher besprochenen Beispielen beruht die Scheitelgrubenbildung von *Rheum* ausschließlich auf medullärem pDW; corticales unterbleibt — auch bei älteren Pflanzen — nahezu vollständig, so daß die Rinde als dünner Mantel den mächtigen, später von Bündeln (Abb. 20, *III MB*) durchzogenen Markkörper umgibt.

Erst mit dem Eintritt in die reproduktive Phase geht die Scheitelgrube verloren und wird vom terminalen Inflorescenzsproß „ausgefüllt". Der Übergang vom vegetativen zum reproduktiven Wachstum selbst ist durch eine säulenförmige Verlängerung des VP gekennzeichnet (Abb. 20, *III*, *VI*; s. auch Rauh 1950, Abb. 171a, *II*). Mit der Scheitelaufwölbung ändert sich die Streckungsrichtung der vom Markzellen-

meristem gebildeten Zellen. Diese dehnen sich nicht mehr wie in der vegetativen Phase, in radialer, sondern in longitudinaler Richtung (Abb. 20, *VI*), wobei zahlreiche Antiklinalteilungen auftreten. Die Markzellen ordnen sich jetzt wieder in parallel verlaufenden Periklinen an (Abb. 20, *VI*). Da nun gleichzeitig Internodienstreckung einsetzt, erfolgt eine rasche Verjüngung der Sproßachse und damit ein Abklingen des EW.

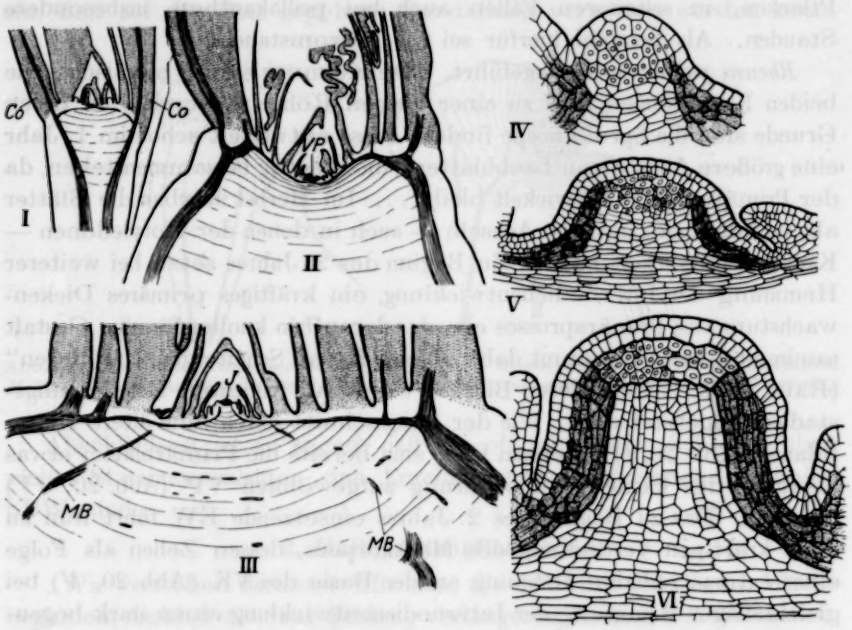


Abb. 20. *Rheum palmatum*. *I* Längsschnitt durch eine ältere Keimpflanze, an der die beiden Kotyledonen *Co* noch erhalten sind; *II* Längsschnitt durch die Primärachse einer 2jährigen; *III* einer zur Inflorescenzbildung übergehenden Pflanze; *MB* medulläre Bündel, *J* Inflorescenzanlage. *IV—VI* Vegetationspunkte der in *I—II* wiedergegebenen Längsschnitte. (*I—III* 10-, *IV—VI* 140fach.)

Zur Architektonik des VP von *Rheum* ist zu sagen, daß dieser bis zur Ausbildung der Teilinflorescenzen eine klare Zonierung aufweist (Abb. 20, *III—VI*) und die Scheitelerstarkung durch Verdoppelung der ursprünglich einschichtigen Tunica gekennzeichnet ist.

Sempervivum tectorum L. Ein dem Rhabarber entgegengesetztes Verhalten liegt der Scheitelgrubenbildung von *Sempervivum*[1] zugrunde. Obwohl im Verlauf des EW auch eine Erweiterung des Markkörpers eintritt, so bleibt dieser im Verhältnis zur Gesamtdicke der Rosettenachse doch relativ dünn. Deren ± knollenförmige Anschwellung beruht

[1] Da *Sempervivum* bereits Gegenstand der Untersuchungen von TROLL und RAUH (1950, S. 60ff.) war, kann auf die dort gegebene Darstellung verwiesen werden.

vielmehr auf corticalem pDW, das in Übereinstimmung mit vielen Kakteen zu einer erheblichen Verdickung der primären Rinde führt. Man vergleiche hierzu die bei TROLL und RAUH (1952) wiedergegebenen Abb. 52, *I—III*. Die Zellteilungsvorgänge in der primären Rinde sind die gleichen, wie sie auf S. 347 für *Echinopsis* geschildert wurden. Durch regelmäßig erfolgende Periklinal- und Antiklinalteilungen entstehen die bekannten bogenförmig-antiklinalen Zellzüge, die zur Bildung einer, wenn auch nur flachen Scheitelgrube (TROLL und RAUH, Abb. 52, *III*) führen. Allerdings ist diese nur an älteren Rosettenachsen nachzuweisen und verschwindet mit dem Eintritt in die florale Phase.

Auch der VP von *Sempervivum*, der sich als breites, nur wenig aufgewölbtes Meristem darbietet, weist in Übereinstimmung mit anderen Untersuchungsobjekten die bekannte Zonierung in Markmutterzellen, Markzellen- und Flankenmeristem auf.

Umbelliferen. Schon von TROLL und RAUH (1950) wurde darauf hingewiesen, daß auch zahlreiche Vertreter aus der Familie der Umbelliferen, insbesondere die halbrosettig wachsenden Arten, ein EW aufweisen. Wenn dieses äußerlich nicht in Erscheinung tritt, so allein deshalb, weil es nur auf den kurzen Rosettenbereich beschränkt ist und hier teilweise durch sekundäres, cambiales DW maskiert wird (siehe Abb. 48, bei TROLL und RAUH). Bei allen untersuchten Arten beruht das EW auf primären Verdickungsprozessen. Erreichen diese nun sehr große Beträge, so können gegen Ende der vegetativen Phase Scheitelgruben auftreten. Allerdings sind diese im Vergleich zu den bisher besprochenen Beispielen sehr flach (Abb. 21, *I*, *III*). Meist kommt es nur zur Bildung einer „Scheitelebene", d. h. die Blattansätze liegen alle auf der Höhe des VP (Abb. 21, *I—II*). Entfaltet das pDW aber eine nur geringe Tätigkeit, so unterbleibt die Bildung von Scheitelgruben vollständig und Längsschnitte durch die Sproßachsen ergeben Bilder, wie sie in Abb. 21, *Ia* wiedergegeben sind.

Da die Histogenese der Scheitelgruben auch bei den halbrosettigen Umbelliferen in völliger Übereinstimmung mit den bisher besprochenen Beispielen verläuft und sich keine wesentlich neuen Gesichtspunkte ergeben, können die in Abb. 21 wiedergegebenen Arten zusammenfassend besprochen werden.

Die scheitelgrubenbildenden Umbelliferen lassen sich unter Zugrundelegung der Verdickungsprozesse den beiden folgenden Typen zuordnen:

a) Die Scheitelgruben verdanken ihre Entstehung vorwiegend *corticalem* pDW. *Beispiel: Eryngium bromeliaefolium* (Abb. 21, *Ia—b*). Wenngleich auch der Markkörper im Verlauf des EW ein von VP-Erstarkung begleitetes Dickenwachstum aufweist, so erfährt die primäre Rinde eine auf Zellvermehrung beruhende wesentlich größere Ver-

dickung (vgl. Abb. 21, *Ia* mit *Ib*). Da in den in Periklinen angeordneten Rindenzellen auch die Antiklinalteilungen sehr regelmäßig auftreten, nehmen die Rindenzellen in ihrer Gesamtheit einen bogenförmigantiklinalen Verlauf und heben dabei die Primordien über den Scheitel empor.

b) Das entgegengesetzte Verhalten zeigen die knollig verdickten Achsen von *Apium graveolens*, die kurz vor Eintritt in die florale Phase eine flache Scheitelgrube aufweisen (Abb. 21, *IV*). Das der Sproßachse

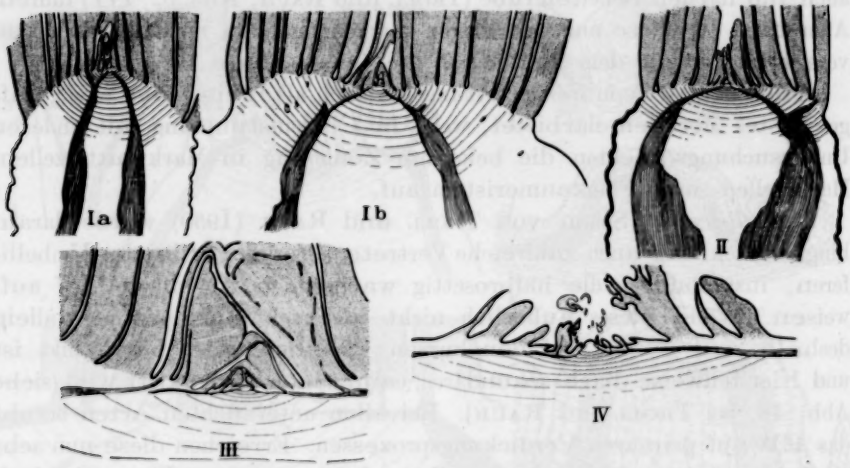


Abb. 21. *I Eryngium bromeliaefolium*. *Ia* Längsschnitt durch die Rosettenachse einer 1-, *Ib* einer 2jährigen Pflanze; *II Carum Carvi*; *III Dorema Ammoniacum*; *IV Apium graveolens*; diese Pflanzen befinden sich kurz vor dem Eintritt in die florale Phase (10fach).

zugehörige Gewebe besteht vorwiegend aus Mark; die primäre Rinde hat an der Achsenverdickung einen nur geringen Anteil.

c) Eine Zwischenstellung nehmen die Rosettenachsen von *Carum Carvi* (Abb. 21, *II*), *Dorema Ammoniacum* (Abb. 21, *III*), *Angelica Archangelica* u. a. ein. Obwohl bei diesen kräftiges medulläres pDW vorhanden ist, das schon auf der Höhe des VK eine starke Erweiterung des Markkörpers zur Folge hat, führt erst Zellvermehrung in den scheitelfernen Rindenpartien zur Bildung der eigentlichen Grube.

Zellanordnung, -wachstum und -vermehrung stimmen bei allen untersuchten Umbelliferen vollständig mit den früher besprochenen Beispielen überein.

Hinsichtlich des Baues und der Zonierung der VP verhalten sich die Umbelliferen recht einheitlich: sie sind kuppelförmig aufgewölbt und besitzen eine größere Zahl von Tunicaschichten. Meist sind deren 2—4 vorhanden[1]. Die von ihnen überdeckte Corpusspitze weist die bekannte

[1] Es wird am hiesigen Institut in anderem Zusammenhang untersucht, ob die hohe Zahl der Tunicaschichten lediglich ein Phänomen der VP-Erstarkung ist oder ob bereits am VP des Embryos mehrere Tunicaschichten nachzuweisen sind.

Zonierung in Markmutterzellen, Flanken- und Markzellenmeristem auf. Die vom letzteren gebildeten Markzellen strecken sich an der Basis des VK sofort in radialer Richtung und nehmen infolge Hemmung der Internodienentwicklung einen bogenförmigen Verlauf.

Beim Eintritt in die florale Phase verlängern sich die Scheitel zapfenartig, womit, bei gleichzeitiger Internodienverlängerung, eine rasche Dickenabnahme der Sproßachse und damit auch ein Verschwinden der Scheitelgruben eintritt.

3. Rosettenpflanzen ohne Scheitelgruben.

Im Verlauf der vorliegenden Untersuchungen wurden auch eine Reihe von Rosettenpflanzen gefunden, die keine Scheitelgruben auf-

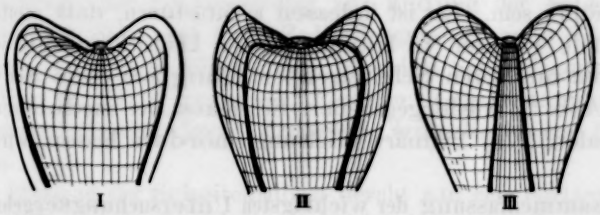


Abb. 22. Schema der Scheitelgrubenbildung. *I—II* medulläre, *III* corticale Form.

weisen. Es sind hier vor allem die in Lehrbüchern als klassische Beispiele für Rosettenpflanzen aufgeführten *Aeonium-* (*Ae. tabulaeforme Ae. arboreum*) und *Echeveria*-Arten zu nennen. Obwohl der äußere Eindruck, insbesondere die trichterförmige Vertiefung des Rosettenzentrums auf die Anwesenheit von Scheitelgruben schließen läßt, können bei mikroskopischer Untersuchung keine solchen nachgewiesen werden. Hinsichtlich ihrer Wuchsform unterscheiden sich die *Aeonium-* und *Echeveria*-Arten von den Rosettenpflanzen vom Typus *Plantago* und *Taraxacum* nicht unwesentlich darin, daß es zur Ausbildung einer auf älteren Entwicklungsstadien deutlich in Erscheinung tretenden Sproßachse kommt, die in ihren rückwärtigen Teilen blattlos ist und nur an der fortwachsenden Spitze eine Rosette der jeweils neugebildeten Blätter trägt. Die Rosetten werden also über den Erdboden emporgehoben. Troll (1937) bezeichnet diesen Wuchstypus deshalb treffend als „hochstämmige Rosetten", die den Rosettenbäumen vom Typus der Palmen, abgesehen von den Größenverhältnissen, durchaus gleichzusetzen sind. Während der Stammbildung der Palmen aber ein kräftiges pDW zugrunde liegt, entfaltet dieses bei den krautigen „Hochstammrosetten" nur eine geringe Tätigkeit. Deren Achse bleibt demzufolge relativ dünn. Da außerdem das Längenwachstum das Dickenwachstum überwiegt, kommt es nicht zur Bildung von Scheitelgruben.

Auch bei den Ganzrosettenpflanzen *Drosera*, *Pinguicula* und *Trapa natans* fehlen diese, da deren Rosettenachsen ein nur geringes primäres Dickenwachstum besitzen.

Aus diesen Beobachtungen ist der wichtige Schluß zu ziehen, daß Rosettenwuchs bzw. Hemmung der Internodienentwicklung allein nicht zur Bildung von Scheitelgruben führt, sondern daß Internodienstauchung erst im Zusammenwirken mit kräftigem pDW, sowohl in seiner medullären als auch in seiner corticalen Form, die Voraussetzungen zur Bildung von Scheitelgruben liefert.

Wenn in der vorliegenden Untersuchung zahlreiche neue, in der Literatur bisher nicht bekannte Beispiele krautiger Dikotylen mit Scheitelgruben gefunden wurden, so dürfte deren Zahl damit keineswegs erschöpft sein. Es ist indessen anzunehmen, daß weitere, noch aufzufindende Pflanzen in histogenetischer Hinsicht nichts wesentlich Neues bieten und deren Scheitelgrubenbildung sich ohne Schwierigkeit in die in Abb. 22 wiedergegebenen Schemata der medullären (*I—II*) und corticalen (*III*) Primärverdickung einordnen lassen wird.

4. Zusammenfassung der wichtigsten Untersuchungsergebnisse.

1. Für zahlreiche krautige Ganz- und Halbrosettenpflanzen wird festgestellt, daß diese im Bereich der Region gestauchter Internodien ein so kräftiges Erstarkungswachstum aufweisen, daß es in ähnlicher Weise zur Ausbildung von Scheitelgruben kommt, wie sie bei Angiospermen bisher nur von Monokotylen bekannt waren. Wenn bei vielen Untersuchungsobjekten das EW äußerlich seinen Ausdruck nicht in einer verkehrt-kegelförmigen Gestalt der Achse findet (vgl. die Untersuchungen von TROLL und RAUH 1950), so nur deshalb, weil das EW allein auf die sehr kurze Rosettenregion beschränkt ist und außerdem in der Übergangszone vom Hypokotyl zum Primärsproß durch cambiales sDW teilweise maskiert wird.

2. In Übereinstimmung mit den Untersuchungen von TROLL und RAUH (1950) beruht das Erstarkungswachstum auch der Rosettenpflanzen ausschließlich auf primären Verdickungsvorgängen. Es wird festgestellt, daß Rosettenbildung bzw. Internodienstauchung erst in Verbindung mit gesteigertem pDW zur Scheitelgrubenbildung führt.

3. Bei *Plantago*, *Taraxacum*, vielen Stammsucculenten und *Rheum* wird diese schon auf frühesten Entwicklungsstadien eingeleitet; bei der Mehrzahl der untersuchten Pflanzen, insbesondere den Halbrosetten, entstehen die Scheitelgruben erst im Verlauf der Entwicklung; sie kennzeichnen das Maximum der Dickenperiode der Sproßachse und gleichzeitig das Ende der vegetativen Phase.

4. Bei Ganzrosettenpflanzen mit unbegrenzter Achse und bei vielen Stammsucculenten bleiben infolge seitlicher Blüten- bzw. Inflorescenzstellung die Scheitelgruben zeitlebens erhalten; bei Ganzrosettenpflanzen mit begrenzter Achse und bei Halbrosettenpflanzen verschwinden diese mit dem Eintritt in die florale Phase und werden von den sich ausdifferenzierenden Inflorescenzsprossen „ausgefüllt".

5. Die zur Scheitelgrubenbildung führenden primären Verdickungsprozesse lassen sich ohne Schwierigkeit in die von Troll und Rauh (1950, S. 12) gegebene Übersicht einordnen:

a) Der Scheitelgrubenbildung liegt rein medulläres pDW zugrunde (Abb. 22, *I*); eine Verdickung der primären Rinde unterbleibt nahezu vollständig: *Rheum palmatum*, *Apium graveolens*, *Opuntia*-Arten.

b) Obwohl medulläres pDW und die daraus resultierende Erweiterung des Markkörpers die Voraussetzung zur Bildung der Scheitelgruben liefert, entstehen diese erst durch Zellteilungsvorgänge in der primären Rinde, durch welche die Blattansätze über den Scheitel emporgehoben werden (Abb. 22, *II*): *Taraxacum*, *Plantago*, *Geum*, stammsucculente *Euphorbiaceae*, *Carum Carvi*, *Eryngium bromeliaefolium* (häufigstes Verhalten).

c) Die Bildung der Scheitelgruben beruht auf rein corticalem pDW (Abb. 22, *III*): viele *Cactaceae*, *Primula Auricula*, *Nymphaea alba*, *Sempervivum tectorum*.

6. Den primären Verdickungsvorgängen liegen Zellneubildung, -teilung und -dehnung zugrunde.

7. Infolge regelmäßig auftretender Periklinal- und Antiklinalteilungen nehmen die Mark- und Rindenzellen in ihrer Gesamtheit in Scheitelnähe einen ± stark bogenförmig-antiklinalen Verlauf, der zu einem Emporheben der Blattprimordien über den Scheitel hinaus führt.

8. Mit den primären Verdickungsvorgängen läuft in allen Fällen eine Erstarkung des VP einher, die häufig durch eine Formveränderung, den Erstarkungsformwechsel, gekennzeichnet ist. Ein solcher fehlt den flachen bzw. leicht konkaven Scheiteln von *Plantago* und *Taraxacum* in der vegetativen Phase. Die Scheitelerstarkung ist oft durch eine Vermehrung der Zahl der Tunicaschichten gekennzeichnet. Auf Jugendstadien wird der Erstarkungsformwechsel nicht selten vom Plastochronformwechsel überdeckt.

9. Die Vegetationspunkte aller Untersuchungspflanzen weisen die bereits von zahlreichen Dikotylen her bekannte Zonierung in Markmutterzellen, Markzellen- und Flankenmeristem auf. Sie tritt klar an den kuppelförmig aufgewölbten VP'en in Erscheinung, weniger deutlich an den konkaven Scheitelmeristemen von *Taraxacum* und *Plantago*. Der MMZ-Komplex stellt die eigentliche wachsende Sproßspitze dar; in dessen Zentrum lassen sich häufig eine oder mehrere „Initialzellen"

beobachten, um die sich die übrigen gruppieren. Die basalen Zellen des MMZ-Komplexes bilden sich zum Markzellenmeristem um, das durch lebhafte Zellteilungen die Markperiklinen liefert. Markmutterzellen und Markzellenmeristem sind also der eigentliche Ort des medullären pDW und zugleich auch des Längenwachstums. Umgeben wird der MMZ-Komplex vom Flankenmeristem, dessen Tätigkeit die primäre Rinde (also das corticale pDW), die Blattprimordien und die Procambienstränge ihre Entstehung verdanken.

10. Aus der Tatsache, daß eine derartige Zonierung des Scheitelmeristems bereits für zahlreiche Dikotylen-VP'e nachgewiesen werden konnte, kann der Schluß gezogen werden, daß den VP'en der Dikotylen ein einheitlicher Bauplan zugrunde liegt. Noch nicht abgeschlossene Untersuchungen sollen die Frage klären, inwieweit sich eine Zonierung des Scheitelmeristems bereits an ausdifferenzierten Embryonen nachweisen läßt.

Literatur.

Bary, A. de: Vergleichende Anatomie der Vegetationsorgane der Phanerogamen und Farne. Leipzig 1877. — Boke, N. H.: Zonation in the shoot apices of *Trichocereus Spachianus* and *Opuntia cylindrica*. Amer. J. Bot. **28**, 656 (1941). — Histogenesis of the vegetative shoot in *Echinocereus*. Amer. J. Bot. **38**, 23 (1951). — Eckardt, Th.: Kritische Untersuchungen über das primäre Dickenwachstum bei Monokotylen, mit Ausblick auf dessen Verhältnis zur sekundären Verdickung. Bot. Arch. **42**, 289 (1941). — Helm, J.: Das Erstarkungswachstum der Palmen und einiger anderer Monokotylen, zugleich ein Beitrag zur Frage des Erstarkungswachstums der Monokotylen überhaupt. Planta (Berl.) **26**, 319 (1936). — Nägeli, C.: Das Wachstum des Stammes und der Wurzel bei den Gefäßpflanzen und die Anordnung der Gefäßstränge im Stengel. C. Nägeli, Beitr. wiss. Bot. 1. Heft, Leipzig 1858. — Raciborski, M.: Die Morphologie der Cabombaceen und Nymphaeaceen. Flora (Jena) **78**, 244 (1894). — Rauh, W.: Morphologie der Nutzpflanzen, 2. Aufl. Heidelberg 1950. — Rauh, W., u. H. Reznik: Histogenetische Untersuchungen an Blüten- und Inflorescenzachsen. *I.* Die Histogenese becherförmiger Blüten- und Infloreszenzachsen, sowie die Blütenachsen einiger Rosoideen. Sitzgsber. Heidelberg. Akad. Wiss., 3. Abh. **1951**, 139. — *II.* Die Histogenese der Achsen köpfchenförmiger Inflorescenzen. Beitr. Biol. Pflanz. **29**, 233 (1953). — Ross, H.: *Nymphaeaceae*. In Lebensgeschichte der Blütenpflanzen Mitteleuropas, herausgeg. von Kirchner-Loew-Schröter, Lief. 22. Stuttgart 1917. — Sárkány, S.: Über Entwicklung und Funktion des interfaszikularen Kambiums bei *Ricinus communis*. Jb. wiss. Bot. **82**, 625 (1936). — Troll, W.: Vergleichende Morphologie der Höheren Pflanzen, Bd. I, Teil 1. Berlin 1937. — Troll, W., u. W. Rauh: Das Erstarkungswachstum krautiger Dikotylen, mit besonderer Berücksichtigung der primären Verdickungsvorgänge. Sitzgsber. Heidelberg. Akad. Wiss., 1. Abh. **1950**, 1. — Wetterwald, X.: Blatt- und Sproßbildung bei Euphorbien und Cacteen. Nova Acta Leopold. **53**, 377 (1889).

Ausführliche Verzeichnisse der Literatur, die sich mit dem Bau von Vegetationspunkten beschäftigt, finden sich bei Troll und Rauh (1950) und Rauh und Reznik (1951 und 1953).

Prof. Dr. Werner Rauh, Heidelberg, Botanisches Institut der Universität.

Aufnahmebedingungen.

Die Arbeit muß dem Gebiet der Zeitschrift angehören und wissenschaftlich Neues bringen. Arbeiten, die ausschließlich praktischen Zwecken dienen, scheiden aus.

Bei Arbeiten aus Instituten, Kliniken usw. ist eine Erklärung des Direktors oder eines Abteilungsleiters beizufügen, daß er mit der Publikation der Arbeit aus dem Institut bzw. der Abteilung einverstanden ist und den Verfasser auf die Aufnahmebedingungen aufmerksam gemacht hat.

Das Manuskript muß leicht leserlich geschrieben und völlig druckfertig sein; andernfalls sind Verzögerungen im Erscheinen unvermeidlich. Korrekturen im Satz müssen auf das sachlich Notwendige beschränkt werden.

Die Darstellung soll möglichst kurz sein. Ergebnisse dürfen nicht gleichzeitig in Tabellen- und Kurvenform dargestellt werden.

Die Abbildungen sind auf das Notwendigste zu beschränken, insbesondere die Reproduktion von Photos.

Bei einleitenden Literaturbesprechungen soll möglichst auf zusammenfassende Darstellungen verwiesen und nur das zum unmittelbaren Verständnis Notwendige gebracht werden.

Der Arbeit ist eine Zusammenfassung der wichtigsten Ergebnisse im Umfang von im allgemeinen höchstens 1 Seite anzufügen.

Biologie und Wirkung der Fermente

4. Colloquium der Gesellschaft für Physiologische Chemie am 17./18. April 1953 in Mosbach/Baden.

Mit 32 Textabbildungen und 1 Tafel. V, 176 Seiten Gr.-8°. 1953.

Steif geheftet DM 19.60

Inhaltsübersicht: **Die Biologie der Enzyme.** Von K. Lang-Mainz. — **Proteine als Träger der Fermentwirkungen.** Von Th. Bücher-Hamburg. — **Structurally-bound enzymes.** By E. C. Slater-Cambridge/Engl. — **Über Fermentketten und ihre Bedeutung für die Regulation des Kohlenhydratstoffwechsels.** Von H. Holzer-München. — **Antagonismen und Konkurrenzen um den Platz am Ferment.** Von J. Kühnau-Hamburg. — **Aktivierung und chemische Spezifität der Verdauungsendopeptidasen.** Von P. Desnuelle und M. Rovery-Marseille. — **The Mode of Operation of Dehydrogenases with Special Reference to Alcohol Dehydrogenase.** By R. Bonnichsen-Stockholm. — **Gruppenübertragung im Bereich der Carbohydrasen.** Von K. Wallenfels-Tutzing/Obb.

Wie jedes Jahr, hat es sich die veranstaltende „Gesellschaft für Physiologische Chemie" angelegen sein lassen, das Frühjahrscolloquium in Mosbach 1953 zu einem Treffpunkt von angesehenen Forschern der verschiedensten Arbeitsrichtungen auszugestalten. Die acht Vorträge über „Biologie und Wirkung der Fermente" vermitteln zusammen mit den lebendigen Diskussionen eine eindrucksvolle Übersicht über Themen der Fermentwirkung, die augenblicklich im Brennpunkt des Interesses stehen, und über die Methoden, mit denen man der Lösung offener Fragen näherzukommen hofft.

SPRINGER-VERLAG / BERLIN · GÖTTINGEN · HEIDELBERG

Lehrbuch der Pflanzenphysiologie

Vor kurzem erschien:

II. und III. Band:

Entwicklungs- und Bewegungsphysiologie der Pflanze

Von Dr. **Erwin Bünning,** o. Professor an der Universität Tübingen. Dritte Auflage. Mit 479 Abbildungen. XII, 539 Seiten Gr.-8°. 1953. DM 49.60
Ganzleinen DM 54.60

Inhaltsübersicht: **Grundfragen.** Allgemeine Grundlagen. Übersicht von den Faktoren und ihren Wirkungen. — **Aktivitätswechsel.** Die zellphysiologischen Grundlagen wechselnder Aktionsbereitschaft. Die Ursachen der Aktivitätssteigerung. Endogene Aktivitätsrhythmen. — **Wachstum, Zell- und Kernteilung.** Energetik des Wachstums. Der Wachstumsverlauf. Mechanismus des Wachstums. Regulatoren des Wachstums. Kernwachstum. Kern- und Zellteilung. — **Die inneren Faktoren der Differenzierung.** Wachstum mit fehlender oder unvollständiger Differenzierung. Erbgleichheit und -ungleichheit der somatischen Zellen. Die Polarität als Grundlage der Differenzierung. Polarität, Plasmafeinstruktur und intrazelluläre Differenzierung. Polarität, inäquale Teilung und Differenzierung durch die Teilungsfolge. Spontane Differenzierung ohne Beziehung zur Teilungsfolge. Determinationen durch benachbarte Zellen und Gewebe. Determinierende Hormone. Determination durch andere Substanzen. Die Bedeutung autonomer Veränderungen für die Entwicklung. Der Wechsel der Wuchsformen. Die Stabilität der Determination. Anziehung und Verwachsung, Förderung und Hemmung zwischen Zellen und Geweben. Stoffliche Beziehungen zwischen Pfropfpartnern und Chimären. Verschmelzung von Zellen. Förderung und Hemmung durch hormonreiche Orte, Korrelationen. — **Die Bewegungsmechanismen.** Beziehung zwischen Entwicklungs- und Bewegungsphysiologie. Turgorbewegungen. Bewegungen durch negative Wandspannungen. Mechanismus der Bewegungen durch Plasmakontraktionen. Weitere Bewegungen durch plasmatische Aktivitäten. Quellungsbewegungen. — **Die Wirkung äußerer Reize auf Bewegung und Entwicklung.** Grundprobleme der Reizwirkungen. Wirkung mechanischer Reize. Die Wirkung schädigender (energiereicher) Strahlenarten. Wirkung des sichtbaren Lichts und der angrenzenden Spektralbereiche. Die Wirkung von Radiowellen. Temperaturwirkungen. Die Wirkung des jahresperiodischen Wechsels äußerer Faktoren. Wirkung der Elektrizität. Schwerkraftwirkungen. Wirkung chemischer Reize. Bewegungen, bei denen die endonome Komponente stark in den Vordergrund tritt. Einige allgemeine Probleme der pflanzlichen Reiz -und Bewegungsphysiologie. — Sachverzeichnis.

Früher erschien:

I. Band, zweiter Teil:

Biochemie und Physiologie der sekundären Pflanzenstoffe

Von Dr. **Karl Paech,** Professor an der Universität Tübingen. Mit 18 Abbildungen. IX, 268 Seiten Gr.-8°. 1950 DM 24.—; Ganzleinen DM 26.70

Aus den Besprechungen: ... Paech hat eine umfangreiche Literatur in einer gedrängten und zugleich inhaltsvollen, übersichtlichen und angenehm lesbaren Darstellung zusammengefaßt. Experimentelle Tatsachen und hypothetische Interpretationen sind auch für den weniger geschulten Leser überall klar unterscheidbar. Nicht nur Biologen und Chemiker werden das Werk mit großem Gewinn lesen; auch Pharmazeuten, welche ihre pharmakognostischen Kenntnisse in ein biochemisches System der Pflanzenstoffe einzubauen wünschen, werden daraus großen Nutzen ziehen. Wir haben dem Verf. herzlich zu danken, daß er sich von den angedeuteten und zahlreichen anderen, seinem Unternehmen notwendigerweise inhärenten Schwierigkeiten nicht zurückschrecken ließ. Er hat sich um eine sehr fühlbare Lücke in unserem Schrifttum angenommen und ein Werk geschaffen, dem weiteste Verbreitung zu wünschen ist.

„Die Naturwissenschaften"

SPRINGER-VERLAG / BERLIN · GÖTTINGEN · HEIDELBERG

Diesem Heft liegt ein Prospekt des Springer-Verlages, Wien bei.

Springer-Verlag, Berlin · Göttingen · Heidelberg. — Druck der Universitätsdruckerei H. Stürtz AG., Würzburg.
Printed in Germany.